ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

R. FRESENIUS

122. BAND

DRITTES UND VIERTES HEFT

MIT 10 ABBILDUNGEN IM TEXT

Mikrochemisches Institut
Techn. Hochschule
München

MÜNCHEN
VERLAG VON J. F. BERGMANN
1941

Z. anal. Chem.

Die „Zeitschrift für analytische Chemie"

bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie. Arbeiten, die an anderer Stelle in deutscher Sprache veröffentlicht werden, können nicht zum Abdruck gelangen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, meist in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Das Honorar für Originalabhandlungen beträgt je Druckbogen RM 32.—, jedoch werden nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen honoriert. Außerdem werden 25 Sonderabdrücke ohne Berechnung geliefert. Weitere 75 Exemplare werden, falls bei Rücksendung der 1. Korrektur bestellt, gegen eine angemessene Entschädigung geliefert. Darüber hinaus gewünschte Exemplare müssen zum Bogennettopreise berechnet werden.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt; die Zeitschrift wird daher in zwanglos erscheinenden Heften ausgegeben, deren 12 einen Band bilden. Jährlich erscheinen 3—4 Bände zum Preise von je RM 24.—; das Einzelheft kostet RM 2.40.

Anfragen, die sich auf den Bezug der Zeitschrift oder einzelne Nummern, auf Anzeigen und Zahlungen beziehen, sind zu richten an den

Verlag der Zeitschrift für analytische Chemie, Berlin W 9, Linkstr. 22/24.

Band 122 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3 u. 4

Originalabhandlungen

Seite

Asmus, E., Über die Adsorption von Eisen-Phenanthrolin und Eisen-Dipyridyl an Filtern (mit 8 Abbildungen) 81

Wirtz, H., Über die Trennung von Tantal und Niob. II 88

Kocsis, E. A. und **Biró, K.**, 5-Aminosalicylsäure als Fluorescenzindikator 94

Schulek, E. und **Rózsa, P.**, Über die quantitative Bestimmung von einigen p-Aminobenzolsulfonamid-Derivaten 96

Schulek, E. und **Rózsa, P.**, Beiträge zur titrimetrischen Bestimmung des Theophyllins in Arzneigemischen 112

Wanag, G., Einige Derivate der Indangruppe als Reagenzien auf Amine 119

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

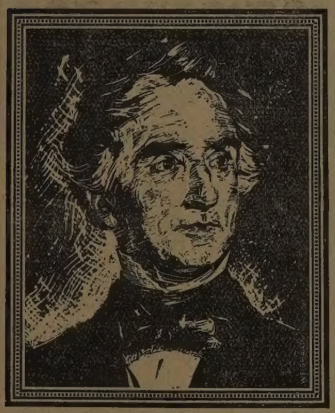
I. Allgemeine analytische Methoden, analytische Operationen, Apparate und Reagenzien.

Literatur (F. Bayer. H. Harff. H. Sirk) 131

Nachweis von Magnesium (J. P. Mehlig und K. R. Johnson. K. Suitsu und K. Okuma) 132

Fortsetzung III. Umschlagseite

Justus Liebig



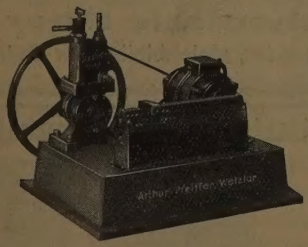
hat die Chemie als erster zielbewußt in den Dienst des praktischen Lebens gestellt. Auf seiner genialen Tätigkeit als Forscher und Lehrer beruht zu wesentlichen Teilen die mächtige Entwicklung, welche die Medizin und Pharmazie, die Landwirtschaft und viele Gewerbe im 19. Jahrhundert genommen haben. Enge, lebenslange Freundesbeziehungen verbanden Justus Liebig mit seinem Landsmann Heinrich Emanuel Merck, dem Inhaber der Darmstädter Engel-Apotheke. Liebig schuf die wissenschaftlichen Voraussetzungen für eine chemische Industrie — Heinrich Emanuel Merck verwirklichte sie praktisch. Er begründete 1827 die

CHEMISCHE FABRIK
E. MERCK
DARMSTADT

2/2A

Pfeiffer's

Labovac-Pharma-Pumpe D.R.P.



mit Universalmotor
ist die
Laboratoriums-Kleinpumpe für Vakuum und Druckluft
Schneller und bequemer Ölwechsel

Vakuum 0,05 mm Hg · Druck 1 atü · Saugleistungen 2—4 cbm/st

Außerdem: 50 Typen Hochvakuumpumpen

Arthur Pfeiffer, Wetzlar C 34

Rosenthals Laboratoriums-PORZELLANE

Der fortschrittliche Chemiker verwendet sie mit Vorliebe

Sie haben in allen Fachgeschäften Preisliste auf Wunsch

ROSENTHAL-PORZELLAN
Aktiengesellschaft-Abt. C. Mackfredwitz/Bayr. Ostm.

Soeben erschien:

Blei und Bleilegierungen

Metallkunde und Technologie

Von

Dr.-Ing. habil.

Wilhelm Hofmann,

Dozent für Metallkunde an der Technischen Hochschule Berlin

Mit einem Geleitwort von

Dr.-Ing. habil. **Heinrich Hanemann**

o. Professor für Metallkunde an der Technischen Hochschule Berlin

(Reine und angewandte Metallkunde in Einzeldarstellungen, Band VI)

Mit 277 Abbildungen
X, 293 Seiten. 1941
RM 28.—; gebunden RM 29.50

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Carl Lang & Grosser G. m. b. H.,

Düren (Rhld.)

Spezialfabrik für Filtrierpapiere

liefern **Filtrierpapiere,**
Rund- und Faltenfilter,
aschenfreie Filter

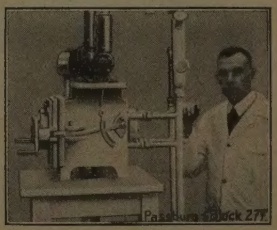
in ganz hervorragender, gleichbleibender Güte.

Verdampfer - Kolloidmühlen - Extrakteure - Vakuum-Trockner

Emil Paßburg und Berthold Block

PB 80

Gesellschaft m. b. H., Berlin-Dahlem



Labor-Vakuum-Trockenschrank

Über die Adsorption von Eisen-Phenanthrolin und Eisen-Dipyridyl an Filtern.

Ein Beitrag zur colorimetrischen Eisenbestimmung.

Von

Erik Asmus.

[Eingegangen am 3. Mai 1941.]

Die Bestimmung von zweiwertigem Eisen, die sowohl für die Metallwirtschaft als auch für die Medizin von großer Bedeutung ist, geschieht, vor allem wenn es sich um rasche Bestimmung kleiner Mengen handelt, am zweckmäßigsten colorimetrisch mit α,α'-Dipyridyl oder mit o-Phenanthrolin[1]).

Es ergibt sich nun öfters die Notwendigkeit, die zu colorimetrierenden Lösungen zur Herabsetzung der Lichtschwächung durch Streuung an Staubteilchen und anderen Verunreinigungen vor dem Eingießen in die Colorimeterbecher zu filtrieren. Es soll nun in den folgenden Ausführungen gezeigt werden, daß die Filtration der Eisen-Phenanthrolin- und Eisen-Dipyridyllösungen durch Papierfilter nicht unbedenklich ist und unter Umständen zu großen Fehlern führen kann. Die Beobachtungen sind im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Komplexe $[Fe(C_{10}H_8N_2)_3]^{\cdot\cdot}$ und $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{\cdot\cdot}$ gemacht worden, die an anderer Stelle veröffentlicht werden sollen.

Vor einiger Zeit beschrieb H. G. Schmidt[2]) einige Versuche zur Methodik der Serumeisenbestimmung mit o-Phenanthrolin und teilte unter anderem mit, daß die von ihm verwendeten Filter den filtrierten Lösungen den Farbstoff teilweise entzögen und daß man diesen Farbverlust der Lösungen verhindern könnte, wenn man ihnen eine bestimmte Menge Schwefelsäure zusetzte. Leider gibt Schmidt nicht an, mit welcher Sorte von Filtern er gearbeitet hat. Da von vornherein anzunehmen war, daß verschiedene Filter sich auch verschieden verhalten würden, schien es nicht aussichtslos, einer in anderem Zusammenhang beobachteten Erscheinung nachzugehen und mehrere Filtersorten systematisch auf ihre Wechselwirkung mit den roten Eisenfarbstoffen zu untersuchen. Die Versuche wurden mit einer Reihe von Filtern der

[1]) Vgl. A. Thiel, Absolutkolorimetrie, S. 102 ff (1939). — [2]) Biochem. Ztschrft. **305**, 104 (1940).

Firma Schleicher & Schüll durchgeführt, wobei speziell folgende Filtersorten untersucht wurden: 595, 597, 590, 589[1], 589[2], 589[3], 575 und 602 hart.

Beschreibung der Versuche und Versuchsergebnisse.

Läßt man eine wäßrige Lösung, die einen der beiden eingangs genannten organischen Eisenkomplexe enthält, zwischen zwei colorimetrischen Messungen durch ein Papierfilter laufen, so findet man bei Verwendung eines der oben genannten Filter, daß nach der Filtration die Rotfärbung der Lösung geringer geworden ist. Die Veränderung der Rotfärbung ist von Filter zu Filter verschieden und hängt von einer ganzen Reihe von Faktoren ab, wie z. B.: Größe des Filters, Dauer der Filtration, Konzentration der filtrierten Lösung, Temperatur der Lösung, p_H-Wert der Lösung usw. Die zunächst naheliegende Annahme, daß es sich um einen rein mechanischen Effekt der Zurückhaltung der verhältnismäßig großen Eisen-Triorthophenanthrolinkomplexe in einem Teil der Poren handeln könnte, muß als Haupteffekt ausgeschaltet werden, da der Farbentzug, wie Versuche mit leicht und schwer filtrierenden Filtern zeigen, nicht etwa mit abnehmender Porenweite parallel geht. Ja, harte Filter können sogar einen geringeren Farbentzug hervorrufen als weiche. Die zweite, ebenfalls naheliegende Annahme ist die, daß es sich bei dem Effekt um eine Adsorption des o-Phenanthrolin- und Dipyridyl-Eisens an der Filtercellulose oder ihren mineralischen Beimengungen handelt, wobei auch die Möglichkeit einer lockeren Verbindung zwischen den Komplexen und der Cellulose nicht von vornherein auszuschließen ist. Vor längerer Zeit haben schon P. Rona und L. Michaelis[1]) durch Versuche nachgewiesen, daß Farbstoffe wie Methylenblau, Eosin usw. von Filtrierpapier durch Adsorption festgehalten werden.

Die untersuchten Lösungen wurden unter Verwendung von Mohrschem Salz hergestellt und waren mit Acetat- bzw. Phosphatpuffer gepuffert. Ihre Konzentration war nicht bei sämtlichen Versuchsreihen gleich, lag jedoch stets zwischen 100 und 200 γ-% Fe, sofern nicht gerade die Abhängigkeit des Effektes von der Konzentration untersucht wurde. Die colorimetrischen Messungen wurden mit einem Leitzschen Colorimeter (Filter SF 5) unter Verwendung von Graulösung (m = 0,50) meist nach der Methode der abgestimmten Schichthöhe[2]) durchgeführt.

Da eine Filtration einen durchaus nicht eindeutigen Vorgang darstellt, wurden zunächst Tränkungsversuche derart durchgeführt, daß die Filter in eine abgemessene Menge — jeweils 20 *ccm* — einer vorher colorimetrierten Lösung gelegt wurden, um ihr einen Teil des Farbstoffes zu entziehen. Vor der zweiten colorimetrischen Messung wurden die Lösungen durch ein Glasfilter filtriert. Sonderversuche hatten gezeigt,

[1]) Biochem. Ztschrft. **103**, 19 (1920). — [2]) A. Thiel, a. a. O.

daß die verwendeten Glasfilter ohne Einfluß auf die Farbtiefe der Lösungen waren. Außer diesen Tränkungsversuchen wurde auch eine Reihe direkter Filtrationsversuche durchgeführt.

Zunächst wurde die zeitliche Abhängigkeit des Effektes untersucht. Zu diesem Zwecke wurden die Filter verschieden lange Zeit in die Lösungen gelegt. Das Ergebnis zweier solcher Versuche zeigt die Abb. 17. Nach etwa 3 Min. ist der Gleichgewichtszustand erreicht. Daß eine Zeitabhängigkeit des Effektes besteht, erklärt sich daraus, daß der Farbstoff erst durch Diffusion ins Filter eindringen muß; Schütteln der Lösung beschleunigt die Gleichgewichtseinstellung nicht merklich.

Bei den im folgenden beschriebenen Versuchen wurde auf Grund dieses Ergebnisses die Einwirkungsdauer des Filters auf die Lösung stets so gewählt, daß mit Sicherheit der Endzustand erreicht war. Im übrigen muß schon an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß zur

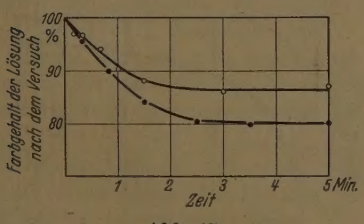


Abb. 17.

Abhängigkeit des Farbentzuges durch die Filter 589¹, 9 *cm* Ø (o) und 595, 11 *cm* Ø (•) von der Zeitdauer der Einwirkung des Filters auf die Lösung beim Tränkungsversuch. o-Phenanthrolin.

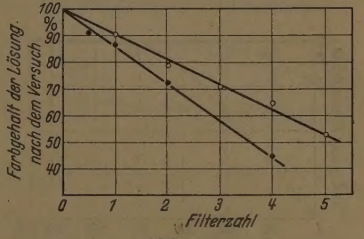


Abb. 18.

Abhängigkeit des Farbentzuges durch die Filter 595, 9 *cm* Ø (o) und 589¹, 9 *cm* Ø (•) von der Filterfläche beim Tränkungsversuch. o-Phenanthrolin.

Erzielung eindeutiger Ergebnisse stets Filter aus derselben Packung verwendet werden mußten, da Filter gleicher Sorte aber verschiedenen Herstellungsdatums unter Umständen stark von einander abweichende Ergebnisse zeigten. Die einzelnen Versuchsreihen sind daher stets mit Filtern aus derselben Packung durchgeführt, wenn auch von Versuchsreihe zu Versuchsreihe das Herstellungsdatum der Filter z. T. stark wechselt.

Es war bei dem Effekt — ganz gleich, ob es sich um Adsorption oder um eine chemische Reaktion handelt — eine Flächenabhängigkeit zu erwarten. Um diese zu prüfen, wurde bei einer Versuchsreihe mit jeweils der gleichen Flüssigkeitsmenge eine verschiedene Anzahl von Filtern zur Wechselwirkung gebracht. Abb. 18 zeigt das Ergebnis zweier solcher Versuche. Man erkennt leicht, daß der Farbentzug im gemessenen Bereich streng proportional der Filterzahl und damit auch der Filterfläche ist. Bei einem direkten Filtrationsversuch würde daher die Menge des entzogenen Farbstoffes in starkem Maße von der Größe des Filters und der benetzten Fläche abhängen.

Wie nicht anders zu erwarten war, hängt der Farbentzug bei gleichem filtrierten Volumen von der Konzentration der Lösung ab. Bringt man jeweils ein Filter in 20 *ccm* Lösung verschiedener Konzentration, so stellt man fest, daß die relative Farbverminderung um so geringer wird, je konzentriertere Lösungen man verwendet. Die absolute Menge des durch das Filter der Lösung entzogenen Phenanthrolin-Eisens strebt jedoch mit wachsender Konzentration der Lösung einem Endwert zu, wie Abb. 19 zeigt. Die Kurve stellt hiernach die Adsorptionsisotherme dar. Die Tatsache, daß ein Filter sich je nach der Konzentration der Lösung verschieden stark mit dem Farbstoff sättigt, hat zur Folge, daß bei einer in der Praxis durchgeführten Filtration der durch den Filtrierprozeß verursachte Fehler bei der analytischen Eisenbestimmung bei gleicher Konzentration der Lösung von dem gesamten durchfiltrierten Volumen abhängt. Filtriert man kleine Volumina, so macht sich der Farbentzug

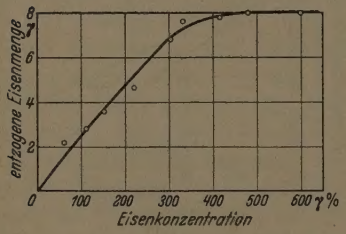


Abb. 19.
Adsorptionsisotherme, aufgenommen mit dem Filter 589[1], 9 *cm* ∅. o-Phenanthrolin.

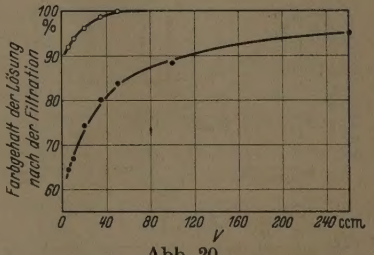


Abb. 20.
Abhängigkeit der Farbänderung einer Lösung von der durchfiltrierten Menge. Filtrationsversuch mit den Filtern 595 verschiedenen Herstellungsdatums (alte Filter •, neue Filter o). o-Phenanthrolin.

relativ stark bemerkbar, beim Filtrieren großer Mengen dagegen wird zwar dem zunächst durch das Filter gehenden Lösungsanteil viel Farbstoff entzogen, der aber das Filter absättigt und so die später filtrierten Anteile vor der Farbverarmung schützt. Bei hinreichend großer durchfiltrierter Menge läßt sich unter Umständen überhaupt kein Farbentzug feststellen, da die entzogene Farbstoffmenge im Verhältnis zu der insgesamt vorhandenen so klein ist, daß der durch das Filter verursachte Fehler unterhalb der colorimetrischen Meßgenauigkeit bleibt. Hierbei benimmt sich natürlich wiederum jede Filtersorte verschieden; aber auch Filter gleicher Sorte, jedoch verschiedenen Herstellungsdatums, zeigen, wie schon erwähnt, große Unterschiede. Die Abb. 20 zeigt zwei solche Filtrationsversuche mit Filtern der Sorte 595, 9 *cm* ∅. Die obere Kurve zeigt, daß bei Filtern einer Lieferung bei Filtration von mehr als 50 *ccm* einer Lösung bestimmter Konzentration keine Farbverminderung colorimetrisch nachweisbar ist. Bei der unteren Kurve erkennt man,

daß auch 250 *ccm* noch nicht genügen, um den Filtrationseffekt praktisch unmerklich zu machen. Bei diesen Filtern, bei denen der Effekt so augenfällig auftritt und an denen die ersten Beobachtungen gemacht worden sind, handelt es sich um sehr alte Lieferungen, die mehrere Jahre im Institut lagerten und aufgebraucht werden sollten. Filter der letzten Lieferungen zeigen den Effekt nicht in so grober Weise, wie die obere Kurve der Abb. 20 (S. 84) erkennen läßt. Aber gerade der geringe Farbentzug ist für die analytische Praxis gefährlicher, da er gegebenenfalls leichter übersehen werden kann oder die entstehenden Fehler dem colorimetrischen Meßverfahren zugeschrieben werden könnten. Man kann nach obigen Ausführungen den durch die Filtration verursachten Fehler ausschalten, wenn man einen Teil der durchfiltrierten Lösung, der natürlich von Fall zu Fall verschieden ist, verwirft und nur den letzten durch das Filter gegangenen Lösungsrest zum Colorimetrieren verwendet.

Die soeben beschriebenen Versuche sind alle mit gepufferten Lösungen durchgeführt worden, und zwar alle bei einem p_H-Wert von ~7. Es lag natürlich der Gedanke nahe, nach einer Abhängigkeit des Filtrationseffektes von der Säurestufe zu fragen. Zu diesem Zweck wurden Tränkungs- und Filtrationsversuche an Lösungen durchgeführt, deren Säurestufen etwa 3, 4, 5, 6 und 7 waren. Bei den ersten drei Stufen wurden Acetat-, bei den beiden letzten Phosphatpuffer verwendet. Die genaue Ermittelung der jeweiligen Stufe geschah elektrometrisch mit einem Lautenschlägerschen Ionometer. Die Stufen sind deswegen so gewählt worden, weil nach Thiel[1]) die Bildung der roten Komplexe in neutraler oder schwach saurer Lösung erfolgen soll. Es wurde das Verhalten sämtlicher zu Beginn genannter Papierfilter verschiedenen Herstellungsdatums beim Tränken und Filtrieren untersucht, ferner wurden Filtrationsversuche mit drei Schottschen Glasfiltern: 1 G 1, 1 G 3 und 1 G 3/5—7 angestellt. Die Glasfilter erwiesen sich als vollständig frei von dem bei den Papierfiltern beobachteten Filtrationseffekt im ganzen untersuchten Säurestufenbereich. Bei den Papierfiltern kann man zwei Gruppen unterscheiden: Bei der einen Gruppe (Filter 595) ist der Farbentzug wenig abhängig vom p_H-Wert; er wird etwas geringer im sauren Gebiet (vgl. hierzu Abb. 21). Die anderen Filter, und zwar fast durchweg

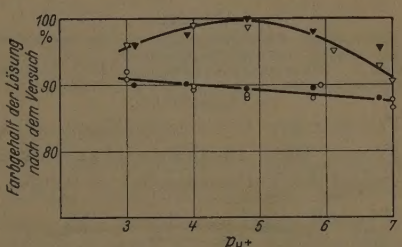


Abb. 21.

Abhängigkeit des Farbentzuges von der Säurestufe der Lösung im Tränkungsversuch. ○ Filter 595, 9 *cm* Ø, o-Phenanthrolin; • Filter 595, 9 *cm* Ø, Dipyridyl; ▽ Filter 589¹, 9 *cm* Ø, o-Phenanthrolin; ▼ Filter 589¹, 9 *cm* Ø, Dipyridyl.

[1]) a. a. O.

solche, die mit Flußsäure und mit Salzsäure von den mineralischen Bestandteilen befreit worden sind, zeigen ein mehr oder minder ausgeprägtes Minimum des Farbentzuges (Maximum der Filterdurchlässigkeit) in der Gegend der Säurestufe 5. Einzelne Filter waren unter den Versuchsbedingungen im Gebiet des Durchlässigkeitsmaximums 100%ig durchlässig, verhielten sich also wie Glasfilter (vgl. hierzu die Abb. 22 und 23). Manche Filter, wie z. B. die Filtersorte 602 hart, waren praktisch ideal, denn der Filtrationsfehler lag innerhalb der üblichen Colorimetriergenauigkeit.

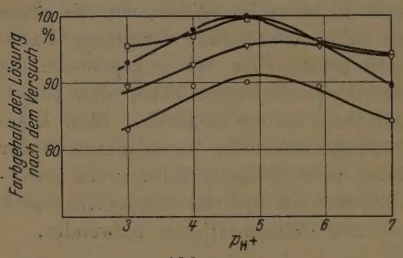


Abb. 22.

Abhängigkeit des Farbentzuges von der Säurestufe der Lösung im Tränkungsversuch. □ Filter 590, 9 cm Ø; • Filter 589³ ältere Lieferung, 9 cm Ø; ○ Filter 589³ neuere Lieferung, 9 cm Ø; ▽ Filter 597, 9 cm Ø. o-Phenanthrolin.

Der ganz andere Kurventypus für den Farbentzug durch das Filter 595 als Funktion der Säurestufe legt den Gedanken nahe, daß der Mechanismus des Farbentzuges bei diesem Filter ein anderer ist als bei den übrigen Filtern. Diese Annahme wird auch durch den verschiedenen Temperaturverlauf des Farbentzugeffektes bei den untersuchten Filtern nahegelegt.

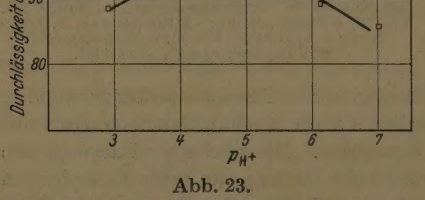


Abb. 23.

Abhängigkeit des Farbentzuges von der Säurestufe der Lösung im Filtrationsversuch. ○ Glasfilter 1 G 3/5—7; • 602 hart, 9 cm Ø; ▽ 589¹, 9 cm Ø; □ 575, 9 cm Ø. o-Phenanthrolin.

Führt man Tränkungsversuche bei verschiedenen Temperaturen durch, so findet man unter sonst gleichen Bedingungen eine Änderung des Farbentzuges mit der Temperatur. Verwendet wurde bei diesen Versuchen ein Phosphatpuffer (Stufe 7), dessen Stufe nach L. E. Walbum[1]) zwischen 10° C und 70° C temperaturunabhängig ist. Wie Abb. 24 (S. 87) zeigt, besitzt das Filter 595 einen negativen Temperaturkoeffizienten des Farbentzuges, es entzieht also bei tiefer Temperatur der Lösung mehr Farbstoff als bei hoher Temperatur. Andere Filter dagegen, wie z. B. 589¹ und 589³, entziehen der Lösung um so mehr Farbstoff, je höher die Temperatur ist. Ob man aus letzterem Befund den Schluß ziehen darf, daß nach Adsorption des Farbstoffes dieser mit der Cellulose des Filters in einer

[1]) Biochem. Ztschrft. **107**, 219 (1920).

endothermen Reaktion eine Verbindung eingeht, läßt sich nicht ohne weiteres behaupten, denn der Adsorptionsvorgang aus Lösungen ist eine recht verwickelte Erscheinung, bei der die adsorbierte Menge nicht unbedingt mit wachsender Temperatur abnehmen muß, wie es z. B. bei Adsorption von Gasen an Kohle oder dgl. stets der Fall ist.

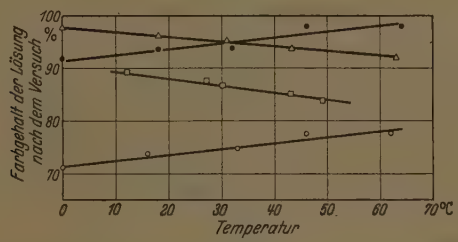


Abb. 24.

Abhängigkeit des Farbentzuges von der Temperatur im Tränkungsversuch für die Filter: ○ 595 ältere Lieferung, 9 *cm* Ø; • 595 neuere Lieferung, 9 *cm* Ø; ▽ 589³, 9 *cm* Ø und □ 589¹, 9 *cm* Ø. o-Phenanthrolin.

Zusammenfassung.

Wäßrige Lösungen, welche die zur colorimetrischen Eisenbestimmung verwendeten Komplexe $[Fe(C_{10}H_8N_2)_3]^{\cdot\cdot}$ oder $[Fe(C_{12}H_8N_2)_3]^{\cdot\cdot}$ enthalten, verlieren teilweise ihre Farbe beim Filtrieren durch Papierfilter. Für eine Reihe von Papier- und Glasfiltern wird die Abhängigkeit dieses Effektes von der Zeitdauer der Wechselwirkung zwischen Filter und Lösung, Filterfläche, Lösungskonzentration, Gesamtfiltratmenge, Säurestufe der Lösung und Temperatur der Lösung untersucht.

Zum Schluß möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. A. Thiel meinen besten Dank für die Überlassung der Institutsmittel auszusprechen.

Marburg/Lahn, den 25. April 1941.
Physikalisch-chemisches Institut der Universität.

Über die Trennung von Tantal und Niob. II.

Von

H. Wirtz.

Mitteilung aus dem Laboratorium der Firma Elektrowerk Weisweiler, Weisweiler.

[Eingegangen am 2. April 1941.]

In meiner ersten Abhandlung[1]), die das zur Trennung von Tantal und Niob von Th. R. Cunningham[2]) angegebene Verfahren eingehend darstellt, ist auf die Möglichkeit einer direkten Trennung von Tantal und Niob mit Hilfe der Bestimmung der Wasserstoff-Ionen-Konzentration hingewiesen worden. Den nachfolgend beschriebenen Versuchsarbeiten lag der Gedanke zugrunde, die Säurekonzentration zu ermitteln, die eine quantitative Trennung der beiden Elemente durch Fällung mit Tanninlösung ermöglicht.

In der Literatur wird für Bromphenolblau (Tetrabromphenolsulfophthalein), das bei der Trennungsmethode von Cunningham als Indikator benutzt wird, ein Umschlagsgebiet von $p_H = 3$—4,6 mit einer Farbänderung von Gelb nach Blauviolett, Purpur oder Rotviolett angegeben. Der Indikator zeigt diese Farben in kalten und in heißen Lösungen, und zwar sind die heißen Lösungen bei einem p_H-Wert von etwa 3 gelb; ihre Farbe geht dann über Grünbraun bei einem p_H-Wert von etwa 3,9 nach Blau und weiter bei einem p_H-Wert von etwa 4,5 nach Purpur über. Diese Messungen bestätigen die von Davis-Salisbury[3]) aufgestellte Tabelle für Tetrabromphenolsulfophthalein. Bromphenolblau zeigt in kalten Lösungen (Zimmertemperatur) einen etwas anderen Farbton als in heißen Lösungen.

Zur Einstellung auf die geeignete Umschlagsfarbe muß daher die Lösung, die mit dem Indikator Bromphenolblau versetzt ist, bis zum Sieden erhitzt werden.

Sulfophthaleine haben die Eigenschaft, in Lösungen verschiedener Stoffe etwas verschiedene Farbtöne zu zeigen wie z. B. in Pufferlösungen. Auch die Konzentrationen der Salzlösungen ändern die Intensität der Farbe sowie auch die Art der Farbe selbst. Bei Bromphenolblau sind die obigen Ausführungen zutreffend. Zum Beispiel fällt anläßlich der Cunninghamschen Trennung der p_H-Wert für eine Tantal-Niob-Lösung

[1]) Diese Ztschrft. **117**, 6 (1939). Dort muß es S. 7, Zeile 8 von unten heißen „methode von Th. R. Cunningham [Ind. Eng. Chem. Analytical Edition **10**, 233 (1938)], die in der Praxis noch wenig bekannt ist"; ferner muß es S. 7, Zeile 6 von unten heißen „daß bei einer gewissen Säurekonzentration (Bromphenolblau als Indikator)". — [2]) Ind. Eng. Chem. Analytical Edition **10**, 233 (1938). — [3]) Berl-Lunge, Chem.-techn. Untersuchungsmethoden, 8. Aufl., I, S. 274 (1931).

bei Purpurfärbung durch Bromphenolblau (die Purpurfarbe tritt hier jedoch nur schwach in Erscheinung) nicht mit dem p_H-Wert einer Bromphenolblaulösung zusammen. Dies ist aus den Tabellen zu ersehen. Erwähnt sei noch, daß das Umschlagsintervall sich bekanntlich bei Indikatoren, wenn die Lösung kochend ist oder noch erhitzt wird, nach dem niedrigen p_H-Wert verschiebt.

Die nachfolgenden p_H-Messungen wurden bei Normaltemperatur 18° C vorgenommen. Für die Messungen wurde das Ionometer nach Lautenschläger mit Ablesemikroskop Z 2 und Glaselektrode V sowie die Platin-Wasserstoffelektrode benutzt. Die Messungen mit den beiden Elektroden weichen etwas voneinander ab, jedoch ist diese Abweichung auf das Endergebnis ohne Einfluß.

Es wurden Lösungen mit bekannten Gehalten an Tantal- und Niobsäure verwendet. Die benutzten Erdsäuren waren rein. Für die Reingewinnung der Erdsäuren aus einem Ferrotantalniob sei auf die Arbeit von K. Brüning, K. Meier und H. Wirtz[1]) verwiesen. Bei den Trennungsversuchen durch elektrometrische Messungen ergab sich die Feststellung, daß die Wasserstoff-Ionen-Konzentration für die Fällung von Tantal und Niob zur direkten exakten Trennung des Tantals vom Niob nicht unterschiedlich genug ist. Dagegen ist die p_H-Messung für die Cunninghamsche Arbeitsweise ein sicheres Hilfsmittel; denn es ist hier ja unwesentlich, ob nun z. B. in Gegenwart von 0,2000 *g* Ta_2O_5 neben 0,2000 *g* Nb_2O_5 mit der Auswage des gesamten Tantals bis zu 0,0160 *g* Niob mit ausfallen.

Zunächst wurden die Fällungsbedingungen in Lösungen je für Tantal und Niob ermittelt. Hierzu wurde eine Einwage von etwa 0,2 *g* benutzt. Das Oxyd wird mit 10 *g* Kaliumbisulfat in einem hohen schlanken Porzellantiegel aufgeschlossen und die Schmelze nach dem Erkalten in etwa 100 *ccm* warmer 5%iger Ammoniumoxalatlösung gelöst. Hierzu gibt man etwa 1—2 *ccm* Schwefelsäure (D 1,84) zu, entfernt dann den Tiegel aus der Lösung und erhitzt die Lösung bis sie klar ist. Alsdann wird die Lösung auf etwa 350 *ccm* verdünnt; sie ist nun zur Messung der Wasserstoff-Ionen-Konzentration zu verwenden. Sie ist auch bei größeren Einwagen meistens zu stark sauer und wird dann mit Ammoniak (1:3) abgestumpft. Hierbei scheidet sich leicht Tantaloxalsäure aus. Bei längerem gelinden Sieden löst sich jedoch die Ausscheidung wieder auf. Bei großen Tantalgehalten ist jedoch die Ausscheidung besonders stark und kaum wieder in Lösung zu bringen. Es darf natürlich nur dann die Lösung mit dem Elektrodensystem in Berührung gebracht werden, wenn sie erkaltet restlos klar ist.

Besonders beim Arbeiten mit der Glaskugelelektrode ergeben sich insofern Schwierigkeiten, als die Elektrode sich mit der ausgeschiedenen

[1]) Metall u. Erz 36, 551 (1939).

Tantaloxalsäure beschlägt. Man gelangt so leicht zu falschen Messungen. Die Elektrode muß zu jeder Messung sauber sein; auf die Dauer wird sie jedoch unbrauchbar. Die hauptsächlichsten Messungen sind daher mit der Platin-Wasserstoffelektrode durchgeführt worden.

Es wurden für die Tantalfällung die in der Tabelle I aufgeführten Ergebnisse festgestellt.

Tabelle I.

Einwage g Ta_2O_5	p_H-Wert etwa	Auswage g Ta_2O_5
0,2000	1,99	0,1720
0 2000	2,33	0,1896
0,2000	2,37	0,1950
0,2000	2,41	0,1958
0,1986	2,43	0,1980
0,1986	2,44	0,1980
0,1986	2,46	0,1980
0,1986	2,48	0,1980
0,1986	2,49	0,1980
0,1986	2,53	0,1980
0,1986	2,57	0,1993
0,1986	2,65	0.1994

Tabelle II.

Einwage g Nb_2O_5	p_H-Wert etwa	Auswage g Nb_2O_5
0,2000	2,56	0,0370
0,2000	2,55	0,0300
0,2000	2,47	0,0284
0,2000	2,44	0,0300
0,2000	2,38	0,0216
0,2000	2,31	0,0226
0,2000	2,14	0,0166
0,2000	2,00	0,0130
0,2000	1,95	0,0100
0,2000	1,90	0,0080

Bei einer Säurekonzentration von etwa $p_H = 2{,}44$ an kann die Fällung als quantitativ angesehen werden. Die Auswage steigt innerhalb der kaum sich ändernden Säurestufe von $p_H = 2{,}41$ bis $p_H = 2{,}43$ verhältnismäßig stark an. Es sei hier, wie auch für alle anderen Messungen darauf hingewiesen, daß sich mannigfache Schwierigkeiten bieten, wodurch nicht immer ein sicheres Ergebnis in gleichmäßiger Richtung gewährleistet ist.

Niob fällt in viel weniger saurer Lösung. Bei einem p_H-Wert von etwa 4 ist die Fällung noch nicht quantitativ. Für die Trennung von Tantal und Niob war die Säurekonzentration zu ermitteln, die eine Fällung von Niob nicht mehr zuläßt. Bei dem p_H-Wert von etwa 1,90 war noch immer eine Fällung von Niob vorhanden, während bei diesem p_H-Wert Tantal schon nicht mehr quantitativ ausfällt. Die Versuchsergebnisse zeigt die Tabelle II.

Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, wird bei dem p_H-Wert von etwa 1,90—2,14 die Säurekonzentration erreicht, die für die Cunninghamsche Trennung von Tantal und Niob einzuhalten notwendig wäre.

Bei einem Gemisch von Tantal und Niob wurden nun die in der Tab. III (S. 91) zusammengestellten Ergebnisse erhalten. Es wurde ein Gemisch von 0,2000 g Tantal- und 0,2000 g Niobpentoxyd zur Trennung angewendet.

Tabelle III.

Einwage g $Ta_2O_5 + Nb_2O_5$	p_H-Wert etwa	Auswage
0,2000 + 0,2000	2,32	0,2422 g $Ta_2O_5 + Nb_2O_5$
	1,98	0,2180
	1,98	0,2160
	1,97	0,2140
	1,96	0,2164
	1,95	0,2142
	1,88	0,2168
	1,85	0,2130
	1,84	0,2140
	1,80	0,2128
	1,76	0,2038
	1,75	0,2010
	1,75	0,2000 g Ta_2O_5
	1,70	0,1910

Bei der Säurekonzentration von etwa $p_H = 1{,}75$ würde eine quantitative Trennung von Tantal und Niob zu erreichen sein. Für die Trennung nach Cunningham würde man mit einem p_H-Wert bei etwa 1,95 beginnend bis etwa 1,76 reichend auskommen. Jedoch zeigen diese Messungen, daß keine genügend große Spannweite innerhalb der Säure-Konzentration zur quantitativen Trennung von Tantal und Niob vorhanden ist. Weiter unten aufgeführte Ergebnisse bestätigen ebenfalls diese Feststellung.

Bei obigen Arbeiten wurde die Platin-Wasserstoffelektrode verwendet. In den Tabellen IV und V (S. 92) sind nun einige Ergebnisse aufgeführt, die mittels Glaskugelelektrode erzielt worden sind. Die Arbeitsweise ist die oben beschriebene.

Tabelle IV.

Einwage	p_H-Wert etwa	Auswage
0,4000 g Nb_2O_5 + 0,2000 g Ta_2O_5	3,8—3,9	0,3186 g $Ta_2O_5 + Nb_2O_5$
	3,5—3,6	0,2760 „
	3,3—3,4	0,2660 „
	2,8—2,9	0,2473 „
	1,90—2,0	0,2012 „
	1,76	0,1822 g Ta_2O_5
	1,6	0,1796

Tabelle V.

Einwage	p_H-Wert etwa	Auswage
0,1 *g* Ta_2O_5 + 0,1 *g* Nb_2O_5	2,09	0,1078 *g* Ta_2O_5 + Nb_2O_5
	1,95	0,1020 „
	1,94	0,0978 *g* Ta_2O_5
	1,93	0,0950 „

Die quantitative Trennung von Tantal und Niob liegt hier gegenüber der Messung mit der Platin-Wasserstoffelektrode bei einem p_H-Wert von etwa 1,95.

Nachfolgendes Analysenbeispiel (Tab. VI, S. 93) zeigt unter A eine Trennung nach Cunningham und unter B mit demselben Muster eine geglückte Trennung durch Bestimmung der Wasserstoff-Ionen-Konzentration mit der Glaskugelelektrode. Bei B wurde ein p_H-Wert von etwa 1,96 eingehalten.

Um die Richtigkeit der Fällung B nachzuprüfen, also um festzustellen, ob auch wirklich alles Tantal ausgefallen war, wurde im Filtrat der Fällung zur Trennung von Tantal und Niob nochmals durch Abstumpfen mit Ammoniak eine Fällung erzeugt. Da nun sämtliches Tantal schon entfernt sein soll bzw. ist, darf nur noch Niob mit Tannin ausfallen. Es muß also der Niederschlag, der bei der erneuten Fällung erhalten wird, reines Niob sein. Die geglühte Fällung muß also gleich dem Resultat, erhalten durch Titration mit Kaliumpermanganat, sein. Die erneute Fällung ergab 0,0074 *g*. Bei der Titration dieser 0,0074 *g* wurde 1 *ccm* Kaliumpermanganatlösung verbraucht = 0,0071 *g* Nb_2O_5. Die Zahlen beweisen die Richtigkeit der Fällung B.

Die Meßapparatur wurde bei den Messungen jeweils durch Pufferstammlösung (Lautenschläger) für 3,0 p_H ($\pm$ 0,05) kontrolliert.

Weiterhin wurden Trennungsversuche, wovon in Tabelle VII drei aufgeführt sind, mittels Lyphan-Papiers durchgeführt. Sie tragen aber nur orientierenden Charakter.

Tabelle VII.

Einwage	p_H-Wert etwa	Auswage
0,2000 *g* Ta_2O_5 + 0,2000 *g* Nb_2O_5	2,5	0,2300 *g* Ta_2O_5 + Nb_2O_5
	1,92	0,2070 „
	1,90	0,1990 *g* Ta_2O_5

Tabelle VI.

Analysen-Beispiel (1 *g* Einwage).	Analyse A		Analyse B	
1. Gesamtauswage		0,7980		0,7965 *g* $Ta_2O_5 + Nb_2O_5$
2. Zur Trennung von Ta und Nb wurde die Hälfte der Gesamtauswage abgenommen.				
Auswage des gesamten Tantals und wenig Niob bzw. des gesamten Tantals allein		0,1320		0,1238 „
3. Verbrauch *ccm* etwa 0,1 n-$KMnO_4$-Lösung für TiO_2-Zusatz + Blindwert 9,0 *ccm*.				
Verbrauch *ccm* 0,1 n-$KMnO_4$-Lösung für Analyse A	10,2			
„ „ „ „ Nb_2O_5	— 9,0 1,2 =	0,0084		—
„ „ „ „ Analyse B	0,1236 9,0			
„ „ „ „ Nb_2O_5	— 9,0 0		0	
			0,1238	—
4. Auf 1 *g* umgerechnet		0,2472		0,2476 *g* Ta_2O_5
		0,5508		0,5489 *g* Nb_2O_5
5. Faktor auf Ta = 0,8189		20,26		20,29% Ta
„ „ Nb = 0,6990		38,57		38,44% Nb.

Zusammenfassung.

Durch elektrometrische Bestimmung des p_H-Wertes ist für die Trennung von Tantal und Niob mittels Tanninfällung und Titration des beim gesamten Tantal mit ausgefallenen geringen Anteils Niob ein sicheres Verfahren gefunden. Eine direkte Trennung der beiden Elemente ist jedoch, da bei einem Gemisch von Tantal und Niob der p_H-Wert für die quantitative Fällung des Tantals frei von Niob und der p_H-Wert für die Fällung des gesamten Tantals mit geringen Mengen Niob dicht beieinander liegen, nicht erreicht.

Für die Praxis läßt sich eine brauchbare Trennungsmethode auf Grundlage der p_H-Messung vorerst nicht aufstellen.

Für die Unterstützung und die Herstellung der für die vorliegende Arbeit notwendigen zahlreichen Analysen sage ich meinem Mitarbeiter Herrn J. Engels meinen besten Dank.

5-Aminosalicylsäure als Fluorescenzindikator.

Von

E. A. Kocsis und K. Biró.

Mitteilung aus dem Institut für allgemeine und anorganische Chemie der Universität Szeged, Ungarn. (Direktor: Prof. A. v. Kiss.)

[Eingegangen am 14. Dezember 1940.]

Die Farbe der 5-Aminosalicylsäure in frisch bereiteter alkoholischer 0,2%iger Lösung ist ganz hellgelb. Die Verbindung fluoresciert in filtriertem Ultraviolettlicht in lebhafter, etwas grünlich getönter weißer Farbe. Diese ändert sich auf Zugabe von Lauge nicht, erlischt aber auf Zugabe von Säure. Infolge dieser ihrer Eigenschaft haben wir die 5-Aminosalicylsäure auf ihre Brauchbarkeit als Indikator geprüft.

Zu den Versuchen verwendeten wir eine alkoholische 0,2%ige Lösung der 5-Aminosalicylsäure der Firma Th. Schuchardt, Görlitz, und nahmen zu einer Titration 20—25 Tropfen. Die Versuche wurden in nicht fluorescierenden Gläsern mit einer UV.-Bogenlampe von Haitinger-Reichert[1]) ausgeführt. Die Oberfläche der Lösung wurde in einem verdunkelten Zimmer beleuchtet. Als Maß- und Titersubstanzen wurden 0,1 n-Säuren bzw. Laugen verwendet, wobei die Kontrolle mit Methylorange als Indikator ausgeführt wurde[2]).

---

[1]) M. Haitinger, Pharm. Monatsh. 12, 80 (1931); Mikrochemie 9, 430 (1931); vgl. diese Ztschrft. 99, 357 (1934). Min. u. Petrograph. Mitt. 45, 463 (1934). — [2]) F. P. Treadwell, Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie, 11. Aufl., II, S. 473 ff. Franz Deuticke, Leipzig und Wien (1923).

Wird der Indikator beim Beginn einer Titration zu einer Lauge zugefügt, so fluoresciert sie in etwas grün getönter weißer Farbe bis nahe zum Äquivalenzpunkt. Auf Zugabe weiterer Säure bis unmittelbar vor den Äquivalenzpunkt erblaßt die Farbe merklich, um beim Erreichen des Äquivalenzpunktes rasch und scharf zu erlöschen. Auf weitere Zugabe von Säure tritt keine Änderung ein.

Die Säurelösung scheint nach Zugabe des Indikators und beim Beginn der Titration im filtrierten Ultravioletlicht bis zur Nähe des Äquivalenzpunktes leer zu sein. Unmittelbar vor diesem erscheint auf weitere Laugezugabe eine schwache graue Dämmerung, die beim Erreichen des Äquivalenzpunktes rasch und sehr scharf in eine lebhaft silberne Farbe übergeht. Auf weitere Laugezugabe tritt keine Veränderung ein.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Versuchsergebnisse.

Ansatz 0,1 n-Natronlauge *ccm*	Verbraucht 0,1 n-Salzsäure *ccm*	Verbraucht 0,1 n-Schwefelsäure *ccm*	Verbraucht 0,1 n-Salpetersäure *ccm*
10	10,01	10,01	9,98
10	9,99	9,99	10,00
10	10,00	10,00	10,01
20	20,02	20,00	19,99
20	20,01	20,02	20,00
20	19,98	20,01	20,01

Ansatz 0,1 n-Salzsäure *ccm*	Verbraucht 0,1 n-Natronlauge *ccm*	Ansatz 0,1 n-Schwefelsäure *ccm*	Verbraucht 0,1 n-Natronlauge *ccm*	Ansatz 0,1 n-Salpetersäure *ccm*	Verbraucht 0,1 n-Natronlauge *ccm*
10	9,98	10	10,00	10	9,99
10	10,00	10	10,01	10	10,01
10	9,99	10	10,00	10	10,01
20	19,99	20	20,00	20	20,00
20	20,00	20	19,98	20	20,01
20	20,01	20	20,01	20	20,00

20 *ccm* 0,1 n-Natronlauge entsprechen, mit Methylorange titriert, 20,01 *ccm* 0,1 n-Salzsäure, oder 19,99 *ccm* 0,1 n-Schwefelsäure, oder 20,00 *ccm* 0,1 n-Salpetersäure. Umgekehrt entsprechen 20 *ccm* 0,1 n-Salzsäure 19,99 *ccm*; 20 *ccm* 0,1 n-Schwefelsäure 20,00 *ccm* und 20 *ccm* 0,1 n-Salpetersäure 19,99 *ccm* 0,1 n-Natronlauge.

Diese Zahlen zeigen, daß die Resultate untereinander wie auch mit Methylorange gut übereinstimmen. Da die Übereinstimmung sich gegenüber Methylorange zeigt, so ist anzunehmen, daß der p_H-Wert der 5-Aminosalicylsäure diesem ähnlich ist und etwa bei 3,1 bis 4,4 liegt.

Auf Grund dieser Versuche ist die 5-Aminosalicylsäure als Indikator zu jenen Titrationen in filtriertem Ultraviolettlicht zu empfehlen, die zwischen starken Säuren und Basen ablaufen, d. h. die auch mit Methylorange zu titrieren wären, wenn die Farbe der Lösung das zulassen würde. Zur Titration einer farbigen Lösung ist der neue Indikator natürlich nur in dem Falle brauchbar, wenn der färbende Stoff das Erscheinen oder das Erlöschen der Fluorescenz nicht hindert.

Wir wollen noch darauf aufmerksam machen, daß die alkoholische Lösung der 5-Aminosalicylsäure sich nach einigen Tagen nachfärbt und in 8—10 Tagen sogar dunkelgelb wird. Eine solche Lösung ist zur Erzielung der in der Tabelle mitgeteilten Genauigkeit noch brauchbar, doch tritt der Umschlag bereits mit einer wesentlich blasseren Farbe ein als bei frischen Lösungen. Es ist daher zu empfehlen, zu den Titrationen nach Möglichkeit stets frisch bereitete Lösungen anzuwenden; keine soll über eine Woche alt sein. 2—3 Wochen alte Indikatorlösungen sind unbrauchbar, da sich ihre Fluorescenzfarbe in ein unsicheres Grau verändert hat.

Über die quantitative Bestimmung von einigen p-Aminobenzol-sulfonamid-Derivaten.

Von

E. Schulek und P. Rózsa.

Mitteilung aus der Chemischen Abteilung des Königlich Ungarischen Hygienischen Institutes, Budapest.

[Eingegangen am 28. März 1941.]

Seit den grundlegenden Arbeiten von G. Domagk und von anderen Forschern über die in der Chemotherapie der Kokkeninfektionen ausschlaggebende Bedeutung der Sulfonamidogruppe in p-Stellung der verschiedenen Aminobenzolsulfonamid-Derivate sind zahlreiche derartige Präparate in Form von Arzneispezialitäten in den Handel gebracht worden. Darunter befinden sich auch solche, die außer den erwähnten Derivaten auch andere pharmakodynamisch wirksame Bestandteile enthalten. Es ist daher vom pharmazeutisch-analytischen Standpunkte angezeigt, unsere analytischen Erfahrungen mitzuteilen.

Der Übersichtlichkeit halber haben wir die analytisch wichtigen Eigenschaften der von uns untersuchten p-Aminobenzolsulfonamid-

Derivate in der Tabelle S. 108/110 zusammengefaßt. Die einzelnen Spalten sind mit römischen Zahlen bezeichnet. Neben der wissenschaftlichen Benennung (Spalte II) bringen wir auch die in Ungarn bekannten, geschützten Namen (Spalte III) von den im Handel befindlichen Präparaten. Dann folgen die Strukturformel (Spalte IV) und das Molgewicht „M" (Spalte V), der Schmelzpunkt (unkorrigiert!) (Spalte VI) und die Löslichkeitsdaten in den wichtigsten Lösungsmitteln (Spalten VII—XI): Wasser, Äthylalkohol (von 96 Vol.-%), Äthyläther, Chloroform und Petroläther (mit dem Siedepunkt 40—45° C). Nun folgen die Angaben über die Löslichkeit in 10%iger Salzsäure (Spalte XII), 10%iger Natronlauge (Spalte XIII) und 10%iger wäßriger Ammoniaklösung (Spalte XIV). In den nächsten zwei Spalten (XV und XVI) berichten wir über eine Diazoreaktion bzw. eine Kondensationsreaktion mit Formaldehyd. In den letzten mit laufenden Zahlen bezeichneten 6 Spalten (XVII—XXII) findet man die Äquivalentgewichte („Ä"), die sich auf die Bestimmungsverfahren beziehen, die unter den gleichen Nummern eingehender besprochen werden.

Die in der Tabelle angeführten Derivate Nr. 1—10 bilden weiße kleinkrystalline Pulver. Das Präparat Nr. 11 stellt ein weißes, das Nr. 12 ein gelbes Pulver dar, die Azofarbstoffe Nr. 13 und 14 sind rotbraun bzw. rot gefärbt. Das kleinkrystalline Präparat Nr. 15 ist kein Sulfonamid-, sondern ein Sulfonderivat. Die Präparate Nr. 11 und 14 sind Natriumverbindungen. Von den Präparaten Nr. 6 und Nr. 10 sind auch die entsprechenden Natriumverbindungen im Handel.

Spalte VII—XI. Zwecks Bestimmung der Löslichkeit in Wasser, Äthylalkohol, Äther, Petroläther und Chloroform wurden die fein zerriebenen Präparate mit dem entsprechenden Lösungsmittel übergossen, täglich öfters durchgeschüttelt und 5—6 Tage lang im Laboratorium (Temperatur 20—22° C) gehalten. Aus den so gesättigten und filtrierten Lösungen wurden nun Anteile von genau 10 *ccm* in kleinen flachen Wägegläschen mit Glasdeckeln eingedampft, dann bei 110° getrocknet und gewogen. Die in der Tabelle mitgeteilten Zahlen geben die Menge der Untersuchungssubstanz in Grammen an, welche die bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung in 100 *ccm* enthält.

Spalte XII—XIV. Die Löslichkeit in 10%iger Salzsäure, 10%iger Natronlauge und 10%iger wäßriger Ammoniaklösung ist zahlenmäßig nicht angegeben. Die Präparate sind im allgemeinen infolge des amphoteren Charakters ihrer Sulfonamidgruppe in Säuren ebenso wie in Laugen löslich. Ist aber der eine Wasserstoff der Gruppe substituiert, so büßt die Löslichkeit des Präparates in Säure ein; wird jedoch das Präparat längere Zeit mit der Säure gekocht, so geht es infolge von Hydrolyse als Sulfosäure in Lösung. Wir wollen schon an dieser Stelle die Aufmerksamkeit auf die Löslichkeit in wäßriger Ammoniaklösung lenken. Diese Eigenschaft ermöglicht nämlich nicht nur eine quantitative

Trennung der Sulfonamidpräparate von anderen nicht löslichen Substanzen, sondern sie kann auch zur Reinigung des betreffenden Sulfonamidpräparates dienen. Trocknet man die ammoniakalische Lösung des Sulfonamidpräparates nach wiederholtem Befeuchten mit Alkohol ein, so gewinnt man das Sulfonamidpräparat quantitativ zurück[1]).

Spalte XV. Die p-Aminobenzolsulfonamidoderivate können fast alle einfach diazotiert und die erhaltenen Diazoniumverbindungen kopuliert werden. Wir haben etwa 0,01 *g* Untersuchungssubstanz in etwa 0,5 *ccm* 10%iger Salzsäure gelöst, dann die Lösung mit 5 *ccm* Wasser und darauffolgend mit 4—5 Tropfen einer 1%igen Natriumnitritlösung versetzt. Zur diazotierten Lösung fügten wir nun etwa 2 *ccm* einer 1%igen β-Naphthollösung in 5%iger Natronlauge. Es entstand fast in allen Fällen, in denen die Bedingungen zur Bildung der Azofarbstoffe vorhanden waren, eine charakteristische Rotfärbung.

Spalte XVI. Läßt man Formaldehyd auf die salzsaure Lösung der p-Aminobenzolsulfonamidderivate einwirken, so entsteht meistens eine charakteristische Fällung von einem wahrscheinlich als Methylenbis-p-aminobenzolsulfonamid zu bezeichnenden Kondensat, das sich in Natronlauge klar und farblos löst. Es ist merkwürdig, daß der durch Zugabe von Formaldehyd erhaltene Niederschlag sich beim Erwärmen — also in saurem Medium — löst. Die Lösung nimmt dabei eine orangegelbe bis rote Farbe an. Beim Abkühlen scheidet sich meistens der Niederschlag wieder aus, der sich dann in Natronlauge klar und farblos löst. Aber auch in dem Fall, daß kein Niederschlag durch Zugabe von Formaldehyd entsteht, nimmt oft die Lösung eine rötliche Farbe an. Die Farbe verschwindet, wenn die Lösung durch Natronlauge alkalisch gemacht wird. Die Ausführung der Reaktion ist folgende: In einem Reagensglas werden 0,02 *g* Untersuchungssubstanz in 3 *ccm* 10%iger Salzsäure (wenn nötig unter lebhaftem Kochen während 2—5 Min.) gelöst, darauf wird die kalte Lösung mit 1 *ccm* 35—40%iger Formaldehydlösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wird einige Sekunden lebhaft gekocht, dann abgekühlt und mit Natronlauge übersättigt.

Bei den einzelnen Präparaten[2]) ist folgendes zu bemerken.

1. Weiße Fällung durch Formaldehyd. Der Niederschlag löst sich beim Erwärmen. Aus der orangegelben bis roten Lösung scheidet sich der Niederschlag beim Abkühlen wieder aus. Die niederschlaghaltige Lösung entfärbt sich nach Zugabe von überschüssiger Natronlauge.

---

[1]) Analog verhalten sich die Ammoniumsalze der Stearin-, Palmitin- und Oleinsäure sowie die der Barbitursäuren usw. Dieses Verhalten wird in unserem Institut in der analytischen Arbeit oft verwertet. — [2]) Die Zahlen entsprechen den laufenden Nummern (Spalte I der Tabelle) und weisen auf die entsprechenden Präparate hin.

2. Nach erfolgter Hydrolyse durch Kochen mit Salzsäure weiße Fällung durch Formaldehyd. Der Niederschlag löst sich beim Erwärmen. Beim Abkühlen scheidet sich der Niederschlag aus der farbigen Lösung wieder aus; er löst sich wieder in überschüssiger Natronlauge farblos.

3. Wie bei 2.

4. Nach erfolgter Hydrolyse durch Kochen mit Natronlauge oder Salzsäure weiße Fällung durch Formaldehyd. (Bei Verwendung von Natronlauge wird die Lösung mit Salzsäure angesäuert!). Im weiteren wie bei 2.

5. Ohne Hydrolyse wie bei 2.

6. Nach erfolgter Hydrolyse durch Kochen mit Salzsäure weiße Fällung durch Formaldehyd. Der Niederschlag löst sich beim Erwärmen, fällt aber beim Abkühlen nicht wieder aus. Die orangegelbe bis rote Lösung entfärbt sich durch Hinzugabe von überschüssiger Natronlauge.

7. Keine Fällung durch Formaldehyd. Beim Kochen orangegelbe bis rote Färbung, die nach dem Alkalischmachen der Lösung verschwindet.

8. Weiße Fällung durch Formaldehyd. Der Niederschlag löst sich nur unvollständig beim Erwärmen. Das orangegelbe bis rote Reaktionsgemisch entfärbt sich nach Zugabe von Natronlauge. Der Niederschlag bleibt ungelöst.

9. Wie bei 8.

10. Wie bei 6.

11. Wie bei 6.

12.—15. Keine kennzeichnende Reaktion.

Quantitative Bestimmungsverfahren.

Der Untersuchung der in der Tabelle angeführten Präparate haben wir folgende Gedankengänge zugrunde gelegt.

E. Schulek und I. Boldizsár[1]) haben schon in einer früheren Arbeit auf die leichte Bromierbarkeit des p-Aminobenzolsulfonamids hingewiesen. Neuere Versuche haben gezeigt, daß nicht nur das p-Aminobenzolsulfonamid, sondern auch die meisten seiner Derivate sich bromatometrisch bestimmen lassen. Die Bromierung des p-Aminobenzolsulfonamids läuft schon beim direkten Titrieren augenblicklich glatt ab. Es entsteht dabei eine Dibromsubstitutionsverbindung und somit ist das Äquivalentgewicht der vierte Teil des Molgewichtes. Diese Reaktion kann auch mit einem Überschuß an Kaliumbromat sowohl bei 0° C als auch bei Zimmertemperatur ausgeführt werden. Die Spalten XVII und XVIII enthalten Hinweise, wie diese bromatometrischen Verfahren bei den einzelnen Präparaten anzuwenden sind.

Kocht man das p-Aminobenzolsulfonamid und seine Derivate — wie dies E. Schulek und I. Boldizsár[2]) gezeigt haben — mit genügend

[1]) Diese Ztschrft. **108**, 396 (1937). — [2]) a. a. O.

starker Schwefelsäure (70%ig), so zerfallen diese Verbindungen in p-Sulfanilsäure und Ammoniak bzw. Alkylamine oder Aminoderivate. Das so entstandene Ammoniak und die Alkylamine können abdestilliert und alkalimetrisch bestimmt werden. Aber auch die anderen Spaltstücke der Präparate, wie die p-Sulfanilsäure, das α-Aminopyridin usw. können quantitativ erfaßt werden, und zwar am einfachsten bromatometrisch. Die Äquivalentgewichte sind aus der Spalte XX zu entnehmen.

Endlich kann der Stickstoffgehalt der Sulfonamidpräparate nach der bekannten Methode (Spalte XXI) oder ihr Gesamtschwefelgehalt (Spalte XXII) bestimmt werden.

Die einzelnen Bestimmungsverfahren geben wir so an, wie sie im Laufe der zahlreichen Untersuchungen sich am besten bewährt haben.

Spalte XVII. Bromatometrisches Verfahren I. In einem 500 *ccm* fassenden Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen wird die genau eingewogene Untersuchungssubstanz — dem halben bis ganzen Milligrammäquivalentgewicht entsprechend — in 2—3 *ccm* 10%iger Natronlauge gelöst. Man versetzt die Lösung mit etwa 200 *ccm* Wasser und 25 *ccm* 38%iger Salzsäure, löst in der Flüssigkeit etwa 1 *g* Kaliumbromid auf und läßt unter ständigem Umschwenken so lange eine 0,1 n-Kaliumbromatlösung zufließen, bis das Reaktionsgemisch eine bleibende gelbe Farbe angenommen hat. Man wirft nun etwa 1 *g* Kaliumjodid in den Kolben, verschließt ihn mit dem mit Wasser befeuchteten Glasstopfen und titriert nach 5 Min. das durch den Überschuß von Kaliumbromatlösung (0,5—1 *ccm*) ausgeschiedene Jod in Gegenwart von Stärkelösung mit 0,1 n-Natriumthiosulfatlösung. Die Anzahl Kubikzentimeter der verbrauchten 0,1 n-Natriumthiosulfatlösung muß natürlich von der verbrauchten 0,1 n-Kaliumbromatlösung in Abzug gebracht werden. Die Äquivalentgewichte sind aus Spalte XVII zu entnehmen.

Bemerkungen. Die Präparate 4 und 10 müssen vorher einer Hydrolyse der Acetyl- bzw. Succinylgruppe mittels 10%iger Salzsäure unterworfen werden (½stündiges Kochen der in 10 *ccm* Salzsäure gelösten Untersuchungssubstanz unter Verwendung eines Rückflußkühlers). Die Hydrolyse des Präparates 4 kann auch durch Kochen mit 10%iger Natronlauge erzielt werden.

Bei den Präparaten 3 und 5 muß das Zurückmessen des Bromüberschusses sofort, also ohne Wartezeit, erfolgen.

Um die fortschreitende Bromierung des Präparates 7 zu vermeiden, nimmt man das Titrieren mittels Bromatlösung in Gegenwart von 2—3 Tropfen einer 0,2%igen mit 96%igem Alkohol bereiteten p-Äthoxychrysoidinhydrochloridlösung[1]) als Indikator vor. Das Verschwinden der

[1]) E. Schulek und P. Rózsa, diese Ztschrft. **115**, 185 (1938/39).

rötlichen Farbe der Lösung zeigt den Endpunkt der Bromierungsreaktion an. Manchmal, besonders beim langsamen Titrieren, kommt es vor, daß die Farbe des Indikators schon während des Titrierens verschwindet. In solchen Fällen müssen weitere Tropfen Indikatorlösung zugefügt werden. Das Präparat 7 kann auch so bestimmt werden, daß man es in 50 *ccm* 10%iger Salzsäure auflöst, 1 *g* KBr zugibt und in Gegenwart von 1 bis 2 Tropfen Indikatorlösung mit 0,1 n-Bromatlösung auf Farblos titriert. Man verdünnt nun das Reaktionsgemisch mit Wasser auf 150 *ccm*, löst etwa 1 *g* KJ auf und titriert das ausgeschiedene Jod in Gegenwart von Stärkelösung mit 0,1 n-Thiosulfatlösung zurück.

Das Präparat 12 kann nur nach dem Ausschütteln des Azofarbstoffes aus der alkalisch gemachten Lösung mittels Chloroforms bromatometrisch bestimmt werden. Aber auch in diesem Fall muß die Succinylgruppe durch Hydrolyse mittels 10%iger Salzsäure (½stündiges Kochen) abgespalten werden.

Beim Präparat 15 ist eine vorherige Hydrolyse mit 70%iger Schwefelsäure (Kochen während 10 Min. unter Benutzung eines Rückflußkühlers!) nötig.

Spalte XVIII. Bromatometrisches Verfahren II. In einem 500 *ccm* fassenden Bromierungskolben mit Glasstopfen, wie ihn E. Schulek und O. Clauder[1]) empfohlen haben, wird die genau eingewogene Untersuchungssubstanz — dem halben bis ganzen Milligramm-äquivalentgewicht entsprechend — in 2—3 *ccm* 10%iger Natronlauge gelöst. Man versetzt die Lösung mit etwa 30 *ccm* Wasser und mit so viel genau gemessener 0,1 n-Kaliumbromatlösung, daß der Bromüberschuß etwa 10—40% ausmacht. Man löst etwa 1 *g* Kaliumbromid in der Flüssigkeit. Das so vorbereitete Reaktionsgemisch versetzt man nun in einem Guß aus einem Meßzylinder mit 10 *ccm* 38%iger Salzsäure, verschließt den Kolben sofort mit dem befeuchteten langstieligen Glasstopfen und gießt etwa 10 *ccm* 5%ige Kaliumjodidlösung in den becherartig ausgebildeten, den Glasstopfen umgebenden oberen Teil des Kolbens. [Benutzt man den Bromierungskolben von E. Schulek und O. Clauder[1]), dann wird so vorgegangen, wie dies bei der Oxinbestimmung genau angegeben worden ist.] Nach 5 Min. wird der Kolben etwas abgekühlt und der Glasstopfen behutsam geöffnet, so daß die Kaliumjodidlösung ohne Bromverlust in den Kolben einfließt. Nach tüchtigem Umschütteln verdünnt man den Kolbeninhalt mit Wasser auf etwa 350 *ccm* und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 n-Natriumthiosulfatlösung in Gegenwart von Stärkelösung als Indikator zurück. (Den Thiosulfattiter bestimmt man vorteilhaft in einem Blindversuch.) Die Äquivalentgewichte findet man in der Spalte XVIII. — Manchmal geht die Bromierung nur bei 0° C in

[1]) Diese Ztschrft. **108**, 387 (1937).

dem gewünschten Sinne vor sich. In diesen Fällen stellt man den Kolben mit dem Reaktionsgemisch und die Salzsäure in Eis und säuert die Flüssigkeit erst nach dem Abkühlen, also nach etwa 10 Min. an. Nach etwa 5 Min. Bromierungsdauer verfährt man, wie oben angegeben.

Bemerkungen. Bei den Präparaten 3 und 7 muß die Bromierung bei 0° C vorgenommen werden. Die Präparate 4 und 10 müssen einer vorangehenden schonenden Hydrolyse der Acetyl- bzw. Succinylgruppe mittels 10%iger Salzsäure unterzogen werden (½stündiges Kochen der in 10 *ccm* Salzsäure gelösten Untersuchungssubstanz unter Verwendung eines Rückflußkühlers). Die Hydrolyse des Präparates 4 kann auch durch Kochen mit 10%iger Natronlauge vorgenommen werden. Dieses Verfahren ist beim Präparat 5 nur auf 2—3% genau. Das Präparat 12 kann nur nach dem Ausschütteln des Azofarbstoffes aus der alkalisch gemachten Lösung mittels Chloroforms und dann nach vorangegangener Hydrolyse mit Salzsäure bromatometrisch bestimmt werden.

Beim Präparat 15 ist eine vorherige Hydrolyse mit 70%iger Schwefelsäure (Kochen während 10 Min. unter Benutzung eines Rückflußkühlers!) nötig.

Spalte XIX. Bestimmung mit Hilfe von Ammoniak bzw. Alkylaminen, die nach vorangegangener saurer Hydrolyse der Sulfonamidgruppe abdestillierbar werden.

In dem 100 *ccm* fassenden Destillierkolben des von E. Schulek und G. Vastagh[1]) angegebenen Destillierapparats wird die genau eingewogene Menge Untersuchungssubstanz — etwa dem halben bis ganzen Milligrammäquivalentgewicht entsprechend[2]) — in 5 *ccm* 70%iger Schwefelsäure gelöst. Um Siedeverzug zu vermeiden, gibt man eine Glasperle in den Kolben und kocht dann seinen Inhalt nach Aufsetzen eines eingeschliffenen Rückflußkühlers während 1 Stde. Der Schliff des Kühlers wird mit konz. Schwefelsäure als Dichtungsmittel versehen. — Unter diesen Verhältnissen wird nur das Sulfonsäureamid gespalten. Um die aus alkalischer Lösung mit Wasserdampf flüchtigen Spaltprodukte zu bestimmen, wird der Kolbeninhalt unter Abspülen des Rückflußkühlers und seines Schliffes mit etwa 60 *ccm* Wasser verdünnt und mit 1 Tropfen Methylrotlösung als Indikator versetzt. Man streut auch ein wenig grobkörniges Bimssteinpulver in den Kolben und stellt nun den Apparat zusammen. Der Schliff des Destillieraufsatzes wird diesmal mit wenig Paraffinöl eingerieben. Als Vorlage dient ein mit einer bekannten Menge (10 oder 15 *ccm*) 0,1 n-Salzsäure (bei Mikroarbeiten 0,02 n-Schwefelsäure) beschickter Erlenmeyerkolben von 100 *ccm* Inhalt. Das Kühlrohr wird

[1]) Diese Ztschrft. 84, 167 (1931). — [2]) Man kann auch im Mikromaßstab arbeiten. In diesem Fall beträgt die Einwage den fünften Teil der Makroeinwage.

während des Destillierens sanft an den Kolbenboden der Vorlage gedrückt. Der angeschmolzene kleine, mit Glashahn versehene Trichter wird mit 10%iger ausgekochter Natronlauge beschickt. Man kocht nun den sauren Inhalt des Destillationskolbens, bis die Luft aus dem Apparat ausgetrieben ist. Nun läßt man die Lauge aus dem Trichterchen in den Kolben zutropfen, bis die rote Indikatorfarbe in Gelb umschlägt, und dann noch einige Tropfen. Das Destillieren wird so lange fortgesetzt, bis der Kolbeninhalt auf etwa $^1/_3$ eingekocht ist. Man unterbricht das Kochen, indem man den Glashahn des Trichterchens öffnet. Man spült dann das Kühlrohr in den Kolben ab und kocht seinen Inhalt, um die Kohlensäure zu entfernen, tüchtig aus. (Grobkörniges Bimssteinpulver nicht vergessen!) Nach dem Abkühlen titriert man den Säureüberschuß in Gegenwart von Methylrot als Indikator in der Weise, daß man vor dem Endpunkt tüchtig auskocht und wieder abkühlt.

Die Äquivalentgewichte sind aus der Tabelle zu entnehmen.

Spalte XX. Bromatometrisches Verfahren III. Die nach der Hydrolyse mittels 70%iger Schwefelsäure nicht abdestillierbaren Spaltprodukte der p-Aminobenzolsulfonamidderivate, und zwar die p-Sulfanilsäure und beim Präparat 7 das α-Aminopyridin, lassen sich auch bromatometrisch bestimmen. Zu diesem Zweck spült man den Destillationsrest in einen 500 *ccm* fassenden Bromierungskolben über und verfährt, wie beim bromatometrischen Verfahren II angegeben worden ist. — Die Äquivalentgewichte sind in der Spalte XX angeführt.

Bemerkungen. Bei den Präparaten 3 und 5 beträgt die Bromierungsdauer 1 Stde.

Spalte XXI. Verfahren auf Grund der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. In dem 100 *ccm* fassenden Destillierkolben des von E. Schulek und G. Vastagh[1]) angegebenen Destillierapparates wird die in einer Zigarettenhülse[2]) genau eingewogene Menge Untersuchungssubstanz — etwa dem halben bis ganzen Milligrammäquivalentgewicht entsprechend[3]) — in 5 *ccm* konz. Schwefelsäure gelöst, dann mit etwa 0,10 *g* $CuSO_4.5\,H_2O$ versetzt und unter lebhaftem Kochen mit einer kleinen Flamme zerstört. Um Siedeverzug zu vermeiden, gibt man eine kleine Glasperle in den Kolben. Man betrachtet die Zerstörung erst dann als beendet, wenn das Reaktionsgemisch nach dem Verschwinden der braunen Farbe hellgrün geworden und noch 1 Stde. lang lebhaft gekocht worden ist. Man vertreibt nun die größte Menge der Schwefelsäure durch weiteres Kochen bis auf etwa 2 *ccm*[4]) unter Einblasen eines Luftstromes,

[1]) a. a. O. — [2]) E. Schulek und P. v. Villecz, diese Ztschrft. **76**, 81 (1929). — [3]) Man kann auch im Mikromaßstab arbeiten. In diesem Fall beträgt die Einwage den fünften Teil der Makroeinwage. — [4]) E. Schulek und G. Vastagh, diese Ztschrft. **92**, 352 (1933).

der durch einen mit 10%iger Schwefelsäure getränkten Wattebausch geleitet worden ist.

Die abgekühlte schwefelsaure Lösung wird nun unter Abspülen des Kolbenschliffes mit Wasser auf etwa 60 *ccm* ergänzt. Man stellt den Destillierapparat zusammen und reibt den trockenen Schliff des Kolbens mit ein wenig Paraffinöl als Dichtungsmittel ein. Im übrigen verfährt man genau so, wie bei dem Bestimmungsverfahren Spalte XIX schon angegeben worden ist.

Bemerkungen. Die Azofarbstoffe 13 und 14 werden in 10 *ccm* 10%iger Schwefelsäure gelöst, dann mit wenig Zinkstaub bis zum Entfärben reduziert. Die Reduktion kann auch mittels wenig Natriumhyposulfits ($Na_2S_2O_4$) anstatt Zinkpulvers ausgeführt werden. Die reduzierte Lösung versetzt man mit 5 *ccm* konz. Schwefelsäure und 0,10 *g* $CuSO_4 . 5H_2O$. Im weiteren wird so vorgegangen, wie oben beschrieben worden ist.

Spalte XXII. Verfahren mit Hilfe der Bestimmung des Schwefelgehaltes.

Die in einer Zigarettenhülse genau eingewogene Untersuchungssubstanz — dem halben bis ganzen Milligrammäquivalentgewicht entsprechend — wird in einem Kjeldahlkolben von 100 *ccm* Inhalt mit 10 *ccm* schwefelsäurefreier Salpetersäure (68%ig) übergossen und mit sehr kleiner Flamme bis zu 2—3 *ccm* abgekocht. Man versetzt das Reaktionsgemisch abermals mit 5 *ccm* Salpetersäure und 1 *ccm* konz. Wasserstoffperoxydlösung und kocht wieder ab. Dieses Verfahren wird 5—6mal wiederholt. Um Siedeverzug zu vermeiden, gibt man eine Glasperle in den Zerstörungskolben. Nun versetzt man die abgekochte salpetersaure Lösung mit 5 *ccm* 25%iger Salzsäure und kocht wieder ab. Dieses Verfahren wird dreimal wiederholt, um auch Spuren von Salpetersäure zu vertreiben. Die salzsaure Lösung spült man nun in eine Platinschale, dampft auf 1—2 *ccm* ein und versetzt behutsam mit etwa 1 *g* wasserfreiem Natriumcarbonat. Das Reaktionsgemenge wird eingedampft, scharf getrocknet und endlich bei Rotglut geglüht, um die letzten Spuren der organischen Substanz zu zerstören. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, mit 1—2 Tropfen schwefelsäurefreiem 30%igem Wasserstoffperoxyd versetzt und in Gegenwart von Methylrot als Indikator mit Salzsäure neutralisiert. Man ergänzt mit Wasser die nötigenfalls filtrierte Lösung in einem Becherglas von 200 *ccm* Inhalt, gibt 1 *g* Ammoniumchlorid zu und säuert mit 1 *ccm* n-Salzsäure an. Aus der im ruhigen Sieden gehaltenen Lösung wird das Sulfat durch tropfenweises Hinzufügen von 10 *ccm* 5%iger Bariumchloridlösung nach L. W. Winkler[1]) gefällt; es wird dann auf einem Sinterglasfilter G 3 gesammelt, getrocknet und gewogen. Das Trocknen geschieht in der Weise, daß man

[1]) Ausgewählte Untersuchungsverfahren für das chemische Laboratorium, S. 133. Verlag Ferdinand Encke, Stuttgart 1931.

den Niederschlag mit 96%igem Alkohol behandelt und dann einen starken Luftstrom hindurch saugt. Das Vorschalten einer Waschflasche mit Calciumchlorid ist nicht nötig[1]). Das Resultat wird durch Multiplizieren mit dem empirischen Faktor 1,006 von L. W. Winkler[2]) korrigiert. Wir bemerken zugleich, daß das Sulfat anstatt nach diesem Verfahren auch in üblicher Weise bestimmt werden kann.

Ist man im Besitz einer Calorimeterbombe, besonders einer für solche Zwecke von E. Schulek[3]) konstruierten Zerstörungsbombe, so kann das Verbrennen der organischen Substanz in dieser erfolgen. Die Untersuchungssubstanz wird in das kleine Platingefäß der Bombe eingewogen und mit 6—7 Tropfen Paraffinöl mittels eines dünnen Glasstabes innig verrührt. Das Stäbchen wischt man mit wenig Watte ab und wirft diese in das Gefäß. Das Gefäß befestigt man mit dem Bajonettverschluß an der Armatur, die schon mit dem dünnen Platindraht und Baumwollfaden vorbereitet worden ist. Es ist vorteilhaft, auch den Baumwollfaden mit 1—2 Tropfen Paraffinöl zu benetzen. Man gibt als Absorptionsflüssigkeit 6 *ccm* Wasser, 1 *ccm* schwefelsäurefreies 30%iges Wasserstoffperoxyd und 3 *ccm* 10%ige Natronlauge zu, verschließt die Bombe, füllt sie mit 25 bis 30 Atm. Sauerstoff und verbrennt das Reaktionsgemenge unter Wasser. Nach dem Abkühlen schüttelt man den Inhalt der Bombe tüchtig durch. Nun öffnet man die Bombe und spült den Inhalt in eine Eindampfschale aus Glas über und dampft ihn ein. Den Trockenrückstand nimmt man mit Salzsäure auf, versetzt mit 1 *g* Ammoniumchlorid und dampft mit 25%iger Salzsäure 2—3mal ein, um die Nitrate zu entfernen. Den Rückstand spült man mit 100 *ccm* Wasser in ein 200 *ccm* fassendes Becherglas, löst in der mit 1 *ccm* n-Salzsäure angesäuerten Lösung 1 *g* Hydroxylaminhydrochlorid auf und bestimmt das Sulfat, wie oben beschrieben.

Die Bestimmung mit der Bombe wird wegen ihrer Einfachheit und Zuverlässigkeit besonders in Zweifelsfällen[4]) an Stelle der Methode nach Carius besonders empfohlen.

* * *

Es mögen an dieser Stelle einige Folgerungen, die aus den durchgeführten bromatometrischen Bestimmungen gezogen werden können, kurz besprochen werden.

Ist das eine Wasserstoffatom der Sulfonamidgruppe durch eine Benzolsulfondimethylamidgruppe in p-Stellung ersetzt (Präparat 2), so bleiben die Verhältnisse bezüglich der Bromierung ohne vorangegangene

[1]) E. Schulek und I. Boldizsár, diese Ztschrft. 120, 410 (1940). — [2]) a. a. O. — [3]) E. Schulek und O. Clauder, Pharm. Zentralhalle 78, 625, 653 (1937); vgl. diese Ztschrft. 118, 299 (1939/40). — [4]) Verluste, verursacht durch flüchtige Schwefelverbindungen, sind in dem Zerstörungsverfahren mittels Salpetersäure a priori nicht ausgeschlossen.

Hydrolyse mit 70%iger Schwefelsäure unverändert. Dasselbe gilt auch für das p-Aminobenzolsulfonacetamid (Präparat 6). Ist die substituierende Gruppe, das Benzolsulfonmonomethylamid, in p-Stellung (Präparat 3), so gelingt die Bromierung nur dann, wenn der geringe Bromüberschuß ohne Wartezeit zurückgemessen wird, oder — wenn man das Bromieren mit einem größeren Überschuß Brom vornimmt — dies bei 0^0 C ausführt. Hier muß also mit einer stufenweise fortschreitenden Bromierung gerechnet werden, was allerdings bei der Bromierung der verschiedensten aromatischen Verbindungen sehr oft zu beobachten ist. Erfolgt die obige Substitution durch eine Benzolsulfonamidgruppe, und zwar auch in p-Stellung (Präparat 5), so findet man die gleichen Verhältnisse wie beim Präparat 3. Die Bromierung mit einem größeren Überschuß an Brom zu der Dibromsubstitutionsverbindung gelingt aber in diesem Fall nur auf 2—3% genau. Nimmt man die oben erwähnte Substitution mit der Pyridingruppe vor (Präparat 7), so kann die Gefahr der weiterschreitenden Bromierung, falls die Bestimmung bei Zimmertemperatur durchgeführt wird, nur durch die Anwendung eines Indikators vermieden werden, der den Endpunkt der ersten Stufe der Bromierung anzeigt. Mit Bromüberschuß kann nur bei 0^0 C erfolgreich gearbeitet werden. In diesem Falle schreitet aber die Bromierung bis zur zweiten Stufe (Tribromsubstitutionsverbindung mit einem substituierten Brom auch im Pyridinring) vor. Dementsprechend ist das Äquivalentgewicht der sechste Teil des Molgewichtes.

Ganz ähnliche Verhältnisse zeigt die Substitutionsverbindung mit einem Thiazolring (Präparat 8), nur mit dem Unterschied, daß man hier durch die Bromierung gleich zu einer Tribromsubstitutionsverbindung — wahrscheinlich mit einem Brom im Thiazolring — gelangt. Dies kann durch die Tatsache als bewiesen betrachtet werden, daß die Substitutionsverbindung mit der 4-Methylthiazolgruppe (Präparat 9) in den angegebenen Verhältnissen nicht zu bromieren ist.

Betrachten wir nun die an der Aminogruppe substituierten p-Aminobenzolsulfonamidderivate: das Succinylaminobenzolsulfonamid (Präparat 10) und das Acetylaminobenzolsulfonaminobenzolsulfonamid (Präparat 4). Diese können nur nach erfolgter milder Hydrolyse durch Kochen mit 10%iger Salzsäure (Präparate 4 und 10) oder 10%iger Natronlauge (Präparat 4) während ½ Stde. nach den bromatometrischen Verfahren I und II bestimmt werden.

Nach einer stärkeren Hydrolyse mittels 70%iger Schwefelsäure bei den Präparaten 1—7 und 10 gelangten wir zur p-Sulfanilsäure. Bei der Bromierung dieses Spaltstückes nach dem bromatometrischen Verfahren III (das als mit dem Verfahren II identisch angesehen werden kann), gelangten wir zu Tribromanilin unter Abspaltung von Schwefelsäure. — Aus diesen bromatometrischen Versuchen geht deutlich hervor,

welche Bedeutung die verschiedenen Atomgruppen an demselben Benzolkern in p-Stellung bezüglich der Bromierbarkeit haben. Die relative Widerstandsfähigkeit der einzelnen Atomgruppen in p-Stellung wird an Hand einer größeren Anzahl von Versuchen mit verschiedenen p-Verbindungen der Gegenstand einer späteren Arbeit sein.

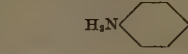
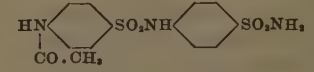
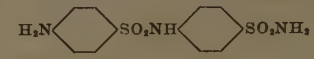
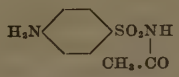
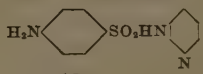
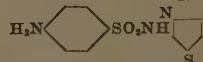
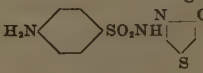
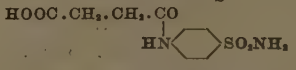
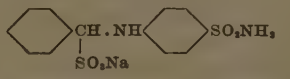
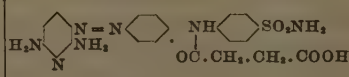
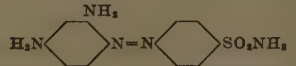
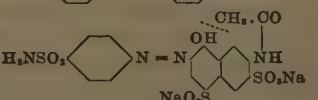
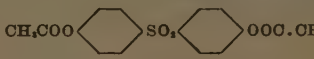
Isolierung bzw. Trennung der p-Aminobenzolsulfonamidderivate.

Nach Besprechung der quantitativen Bestimmungsverfahren der verschiedenen p-Aminobenzolsulfonamidderivate tritt die Frage auf, wie sie aus Tabletten oder aus Arzneigemischen isoliert und bestimmt werden können.

Tabletten, die nur einen pharmakodynamisch wirksamen Bestandteil, d. h. nur ein p-Aminobenzolsulfonamidderivat enthalten, werden mit Hilfe von Stärke, Talk, Rohrzucker, Milchzucker, gegebenenfalls auch mit wenig Stearin oder Paraffin usw. hergestellt. In solchen Fällen wird das fein zerriebene Tablettenmaterial genau eingewogen und mit wenig destilliertem Petroläther (Siedepunkt 40—45° C) auf einem kleinen trockenen Papierfilter zwei- bis dreimal abgespült. Die so entfettete Untersuchungssubstanz wird nun samt Filter in einem Meßkolben mit wenig 10%iger Natronlauge übergossen, die Lösung wird, wenn nötig, auf dem Wasserbad gelinde erwärmt, abgekühlt und mit Wasser bis zur Marke ergänzt. Wenn sich die unlöslichen Bestandteile abgesetzt haben, filtriert man den klaren Teil der Lösung durch ein trockenes Papierfilter. Genau gemessene Anteile der Lösung gelangen endlich zur Bestimmung.

Sind mehrere arzneiliche Bestandteile vorhanden, so muß eine entsprechende Trennung vorgenommen werden. Bei der Auswahl der Methoden können die in der Tabelle angegebenen Löslichkeitsverhältnisse gute Dienste leisten. Wie solche Analysen ausgeführt werden, soll das folgende Beispiel zeigen. Das zu untersuchende Arzneigemisch bestand aus je 3 *g* Pyramidon, Deseptyl (p-Aminobenzolsulfonamid) und salzsaurem Chinin.

Ein gewogener Anteil (etwa 0,35 *g*) des fein zerriebenen Gemisches wird auf einem Papierfilter in einem elektrischen Trockenschrank bei 70° C 2 Stdn. lang getrocknet, dann mit absolutem Äthyläther (über metallischem Natrium frisch abdestilliert) so lange gewaschen, bis ein kleiner Anteil des Äthers nach dem Verdunsten keinen Rückstand mehr hinterläßt, der die Pyramidonreaktion (nach Zugabe von Eisen^{III}-chlorid eine violette Farbe) gibt. In dem Äthyläther befindet sich nun alles Pyramidon und etwas Deseptyl. Darauf stellt man das Papierfilter auf einen Schütteltrichter, löst das Chininhydrochlorid und das Deseptyl mit warmer 10%iger Salzsäure auf und wäscht das Filter mit angesäuertem Wasser nach. Man macht den Inhalt des Schütteltrichters mit 10%iger

Nr.	Name der Verbindung	Handelsnamen der Präparate	Konstitutionsformel	Molgewicht „M“
I	II	III	IV	V
1	p-Aminobenzolsulfonamid	Prontosil alb., Deseptyl, Nigma, Ambesid usw.		172,14
2	4 (4′-Aminobenzolsulfonamino) benzolsulfondimethylamid	Uliron, Elektyl usw.		355,31
3	4 (4′-Aminobenzolsulfonamino) benzolsulfonmethylamid	Neo-Uliron		341,26
4	4 (4′-Acetylaminobenzolsulfonamino) benzolsulfonamid	Neosanamid I		369,26
5	4 (4′-Aminobenzolsulfonamino) benzolsulfonamid	Neosanamid II		327,28
6	p-Aminobenzolsulfonacetylamid	Albucid		214,15
7	p-Aminobenzolsulfon-α-pyridinamid	Sulfapyridin, Ronin usw.		249,17
8	2 (p-Aminobenzolsulfonamino) thiazol	Sulfazol		255,21
9	2 (p-Aminobenzolsulfonamino) 4-methylthiazol	Ultraseptyl		269,23
10	p-Succinylaminobenzolsulfonamid	Succinyl-Ambesid		272,16
11	p-Benzylaminobenzolsulfonamid sulfonsaures Natrium	—		364,24
12	p-Succinylaminobenzolsulfonamid p-phenylazo-α, α′-diaminopyridin	Ritosept		485,29
13	2,4-Diaminoazobenzol-4′-sulfonamid	Prontosil rubr.		327,67
14	4-Sulfonamidophenylazo-7-acetylamino-1-oxynaphthalin-3,6-disulfonsaures Natrium	Prontosil solub.		588,28
15	p-Diacetyldioxydiphenylsulfon	Gonophen		334,25

Schmelzpunkt °C	100 *ccm* bei Zimmertemperatur (etwa 20° C) gesättigte Lösung von enthalten Substanz in Gramm: Wasser	96%igem Alkohol	Äther	Chloroform	Petroläther	Löslichkeit in 10%iger: HCl	NaOH	NH_3	Diazoreaktion	Reaktion mit Formaldehyd
VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI
163°—165°	0,71	reichlich löslich	0,124	0,034	in Spuren	reichlich löslich	reichlich löslich	reichlich löslich	+	+
189°—190°	0,006	„	0,052	0,162	„	nach erfolgter Hydrolyse löslich	„	„	+	+
142°—144°	0,048	„	0,062	0,014	„	„	„	„	+	+
249°—250°	0,01	0,38	0,021	0,004	0,005	„	„	„	nach erfolgter Hydrolyse +	+
129°—130°	0,172	reichlich löslich	0,034	in Spuren	in Spuren	reichlich löslich	„	„	+	+
180°	0,71	5,301	0,122	0,119	0,003	„	„	„	nach erfolgter Hydrolyse +	+
191°	0,036	0,238	0,022	0,055	0,004	„	„	„	+	keine Fällung
195°	0,003	0,562	0,006	0,006	in Spuren	„	„	„	+	+
239°—240°	0,002	0,431	0,006	0,016	„	„	„	„	+	+
212°—214°	0,097	0,538	0,016	0,013	0,007	beim Erwärmen reichlich löslich	„	„	nach erfolgter Hydrolyse +	+
176°—177°	reichlich löslich	0,473	0,091	0,038	in Spuren	reichlich löslich	„	„	„	+
197°—198°	0,03	0,749	0,04	0,049	„	beim Erwärmen mit roter Farbe reichl. lösl.	schwer löslich	teilweise löslich	nicht kennzeichnend	—
219°—220°	0,004	0,166	0,114	in Spuren	0,002	schwer löslich	„	schwer löslich	„	—
—	reichlich löslich	0,046	0,006	0,002	in Spuren	reichlich löslich	reichlich löslich	reichlich löslich	„	—
164°—165°	0,006	0,33	0,317	3,36	0,002	in Spuren	in Spuren	in Spuren	—	—

Nr.	Äquivalentgewicht $\left(Ä = \frac{M}{x}\right)$ bei den Bestimmungsverfahren Nr.						Anmerkung zu den Spalten XVII—XXII
	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII	
1	$\frac{M}{4} =$ 43,04	$\frac{M}{4} =$ 43,04	$\frac{M}{1} =$ 172,14	$\frac{M}{6} =$ 28,69	$\frac{M}{2} =$ 86,07	$\frac{M}{1} =$ 172,14	
2	$\frac{M}{4} =$ 88,83	$\frac{M}{4} =$ 88,83	$\frac{M}{1} =$ 355,31	$\frac{M}{12} =$ 29,61	$\frac{M}{3} =$ 118,46	$\frac{M}{2} =$ 177,66	
3	$\frac{M}{4} =$ 85,32*	$\frac{M}{4} =$ 85,32†	$\frac{M}{1} =$ 341,3	$\frac{M}{12} =$ 28,44§	$\frac{M}{3} =$ 113,75	$\frac{M}{2} =$ 170,63	* Ohne Wartezeit zurücktitriert. † Bromierung bei 0° C. § Bromierungsdauer 1 Stunde.
4	$\frac{M}{4} =$ 92,32*	$\frac{M}{4} =$ 92,32*	$\frac{M}{1} =$ 369,26	$\frac{M}{12} =$ 30,77	$\frac{M}{3} =$ 123,09	$\frac{M}{2} =$ 184,63	* Vorherige Hydrolyse mittels 10%iger Sal säure oder 10%iger Natronlauge (½ Stun Kochen) nötig.
5	$\frac{M}{4} =$ 81,82*	$\frac{M}{4} =$ 81,82†	$\frac{M}{1} =$ 327,28	$\frac{M}{12} =$ 27,27§	$\frac{M}{3} =$ 109,09	$\frac{M}{2} =$ 163,64	* Ohne Wartezeit zurücktitriert. † Genauigkeit nur 2—3%. § Bromierungsdauer 1 Stunde.
6	$\frac{M}{4} =$ 53,54	$\frac{M}{4} =$ 53,54	$\frac{M}{1} =$ 214,15	$\frac{M}{6} =$ 35,69	$\frac{M}{2} =$ 107,08	$\frac{M}{1} =$ 214,15	
7	$\frac{M}{4} =$ 62,29*	$\frac{M}{6} =$ 41,53†	—	$\frac{M}{6} =$ 41,53	—	$\frac{M}{1} =$ 249,17	* Direktes Titrieren in Gegenwart v p-Äthoxychrysoidin; Volumen 50 *ccm*. † Bromierung bei 0° C.
8	$\frac{M}{6} =$ 42,54	$\frac{M}{6} =$ 42,54	—	—	$\frac{M}{3} =$ 85,07	$\frac{M}{2} =$ 127,61	
9	—	—	—	—	$\frac{M}{3} =$ 89,74	$\frac{M}{2} =$ 134,62	
10	$\frac{M}{4} =$ 68,04*	$\frac{M}{4} =$ 68,04*	$\frac{M}{1} =$ 272,16	$\frac{M}{6} =$ 45,36	$\frac{M}{2} =$ 136,08	$\frac{M}{1} =$ 272,16	* Vorherige Hydrolyse mittels 10%iger Sa säure (½ Stunde Kochen) nötig.
11	—	—	$\frac{M}{1} =$ 364,24	—	—	$\frac{M}{2} =$ 182,12	
12	$\frac{M}{4} =$ 121,32*	$\frac{M}{4} =$ 121,32*	—	—	—	$\frac{M}{1} =$ 485,29	* Der Azofarbstoff muß durch Ausschütte der alkalischen Lösung mit Chlorofo entfernt werden. Vorherige Hydroly mittels 10%iger Salzsäure (½ Stur Kochen) nötig.
13	—	—	—	—	$\frac{M}{5} =$ 65,53*	$\frac{M}{1} =$ 327,67	* Vor der Zerstörung eine Reduktion mitt Zinkpulvers in 10%iger Schwefelsäure zur Entfärbung der Lösung nötig.
14	—	—	—	—	$\frac{M}{4} =$ 147,07*	$\frac{M}{3} =$ 196,09	* Vor der Zerstörung eine Reduktion mitt Zinkpulvers in 10%iger Schwefelsäure zur Entfärbung der Lösung nötig.
15	$\frac{M}{8} =$ 41,78*	$\frac{M}{8} =$ 41,78*	—	—	—	$\frac{M}{1} =$ 334,25	* Vorherige Hydrolyse mittels 15 *ccm* 70%i Schwefelsäure (8,4 *ccm* H_2SO_4 + 6 *ccm* H während 10 Minuten nötig.

Natronlauge stark alkalisch und schüttelt das freigemachte Chinin mit Chloroform aus. Die vereinigten Chloroformauszüge werden nun mit Wasser, das durch Natronlauge alkalisch gemacht worden ist, zurückgeschüttelt. Der Chloroformauszug wird darauf mit wenig wasserfreiem Glaubersalz getrocknet und durch ein Wattefilter in einen gewogenen Erlenmeyerkolben filtriert; darauf wird der Kolben mit dem Glaubersalz mit Chloroform 2—3mal ausgespült. Man soll nicht vergessen, etwas grobkörniges Bimssteinpulver vor dem Wägen in den Erlenmeyerkolben zu streuen. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms wird die Chininbase in dem Erlenmeyerkolben bei 120° C getrocknet und nach dem Abkühlen gewogen. In der alkalischen Lösung befindet sich der größte Teil des p-Aminobenzolsulfonamids (Deseptyl). Nach dem Abstumpfen wird die Lösung auf dem Wasserbad eingeengt, wobei auch die letzten Spuren von Chloroform entweichen. Man führt nun die deseptylhaltige Lösung in einen 500 *ccm* fassenden Bromierungskolben über und bestimmt das p-Aminobenzolsulfonamid bromatometrisch.

Der Äthylätherauszug wird sodann auf etwa 20 *ccm* abdestilliert und abgekühlt. Es scheidet sich nun der in Lösung gegangene Anteil des p-Aminobenzolsulfonamids aus. Dieses wird auf einem Papierfilter gesammelt und der Kolben und das p-Aminobenzolsulfonamid werden mit Chloroform gewaschen. Der Äther wird mit dem Chloroform vereinigt und dann abdestilliert. Der Rückstand wird als Pyramidon gewogen, kann aber auch titrimetrisch mit Kaliumpermanganat[1]) bestimmt werden. Das teils in dem Kolben, teils auf dem Filter befindliche p-Aminobenzolsulfonamid wird mit Hilfe von Salzsäure in einen Bromierungskolben übergeführt und dann wie oben beschrieben bromatometrisch bestimmt. Die bromatometrisch erhaltenen p-Aminobenzolsulfonamidwerte werden addiert. Die so ausgeführte Analyse stimmte mit dem berechneten Wert auf 1% überein.

In der besprochenen Analyse mußte Äther als Lösungsmittel angewendet werden, da das Chininhydrochlorid in Chloroform löslich ist. Das Pulvergemisch muß zuerst getrocknet bzw. verwittert werden, damit die Löslichkeit des Chininhydrochlorids in absolutem Äther zurückgedrängt wird.

Wir hoffen, mit der Zusammenstellung unserer Erfahrungen mit den p-Aminobenzolsulfonamidderivaten der pharmazeutischen Analyse einen guten Dienst geleistet zu haben.

[1]) E. Schulek und P. Menyhárth, diese Ztschrft. 89, 426 (1932).

Beiträge zur titrimetrischen Bestimmung des Theophyllins in Arzneigemischen.

Von

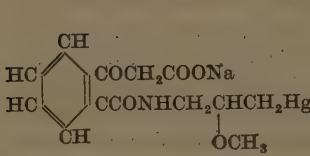
E. Schulek und P. Rózsa.

Mitteilung aus der Chemischen Abteilung des Königlich Ungarischen Hygienischen Institutes, Budapest.

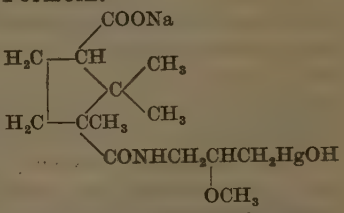
[Eingegangen am 28. März 1941.]

Das Theophyllin wird als beliebtes Diuretikum sowohl allein als auch in Arzneigemischen oft verwendet. Unter den Namen Euphyllin, Diaphyllin, Aminophyllin usw. wird eine wasserlösliche Molekülverbindung von Theophyllin und Äthylendiamin mit einem Theophyllingehalt von etwa 70% in den Handel gebracht. Das Deriphyllin stellt ebenfalls eine wasserlösliche Molekülverbindung mit Diäthanolamin, das Theophyllin-Natriumacetat und Theocin solubile eine solche mit Natriumacetat dar. Aber auch die in Form von Injektionsflüssigkeiten und Suppositorien angewendeten Quecksilberdiuretica [Neosalyrgan, Novurit, Esidron, Dilurgen*) usw.] werden mit wechselnder Menge von Theophyllin wegen der synergetischen Wirkung des letzteren verwendet.

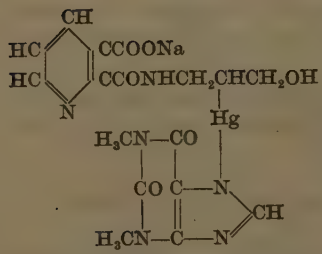
*) Angebliche Formeln:



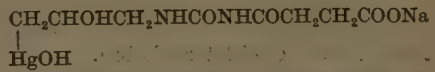
Salyrgan = Salicylallylaminmethoxyquecksilberacetat-o-essigsaures Natrium.



Novurit = Trimethylcyclopentancarbonsäureallylaminomethoxyquecksilberhydroxydcarbonsaures Natrium.



Esidron = Natriumsalz des Chinolinsäuremonoxypropylamidmercuritheophyllins.



Dilurgen = Natriumsalz des Oxyoxymercuriallylsuccinylcarbamids.

Die Bestimmung des Theophyllingehaltes dieser und ähnlicher Gemische stößt auf Schwierigkeiten, da ein allgemein anwendbares Trennungs- bzw. Bestimmungsverfahren in der einschlägigen Literatur nicht aufzufinden ist.

F. Reimers[1]) hat sich vor einigen Jahren mit der Bestimmung des Theophyllins in Euphyllin und Theophyllin-Natriumacetat beschäftigt. Seine Versuche zeigten, daß die jodometrische Methode von G. J. W. Ferrey[2]), die sich an das jodometrische Theobrominbestimmungsverfahren von W. O. Emery und G. C. Spencer[3]) anlehnt, zu keinen völlig befriedigenden Resultaten führt. Auch das jodometrische Verfahren von Konrad Schulze[4]) versagt im Falle von Theophyllin-Natriumacetat. Das Grundprinzip dieser Verfahren ist die Bildung des wasserunlöslichen Theophyllinperjodids $[C_5H_2(CH_3)_2O_2N_4 . HJ . J_4]$ in salzsaurer bzw. essigsaurer Lösung auf Zugabe einer 0,1 n-Jodlösung in bekanntem Überschuß, wobei im Filtrat der Überschuß an Jod bestimmt wird. An dieser Stelle soll nicht unerwähnt bleiben, daß die jodometrische Methode zur Prüfung des Theophyllin-Äthylendiamins (Euphyllin, Aminophyllin) ungeeignet ist[5]). Ebenso waren die Resultate, die nach dem argentometrischen Verfahren der „Analysmetoder"[6]) erhalten wurden, nicht zufriedenstellend. Bei diesem Verfahren versetzt man das Theophyllin in schwach salpetersaurer Lösung mit überschüssiger Silbernitratlösung. Dabei fällt das Theophyllin als schwerlösliches Silbersalz aus. Im Filtrat kann der Silberüberschuß mit Rhodan, in Gegenwart von EisenIII-alaunlösung als Indikator, titrimetrisch ermittelt werden. Auf dem gleichen Prinzip beruht das Verfahren von Ph. W. Schmitt[7]). Dieser arbeitet mit einer ammoniakalischen Silberchloridlösung im Überschuß. Das überschüssige Silberchlorid wird im Filtrat gravimetrisch bestimmt.

Recht befriedigende Ergebnisse erhielt Reimers[8]) dagegen mit der Ausschüttelungsmethode von P. A. W. Self und W. R. Rankin[9]), wobei das Theophyllin mit Hilfe von Dimethylsulfat in schwach alkalischer Lösung zuerst in Coffein umgewandelt und dieses dann mit Chloroform ausgeschüttelt wird.

F. Reimers[8]) hat zur Bestimmung des Theophyllins in Theophyllin-Natriumacetat und Theophyllin-Äthylendiamin ein Ausschüttelungs-

[1]) Dansk Tidsskrift Farm. **9**, 11 (1935). — [2]) Quart. Journ. Pharm. Pharmacol. **4**, 340 (1931). — [3]) Ind. Eng. Chem. **10**, 605 (1918); vgl. diese Ztschrft. **59**, 336 (1920). — [4]) Apotheker-Zeitung **46**, 968 (1931). — [5]) American Medical Association Chicago, New and nonofficial Remedies, S. 442 (1935). — [6]) Nordiske Specialitets Kommission Stockholm, „Analysmetoder" 1927, Heft 3, S. 70 und 1929, Heft 5, S. 22. — [7]) Vgl. diese Ztschrft. **87**, 238 (1932). — [8]) a. a. O. — [9]) Quart. Journ. Pharm. Pharmacol. **4**, 346 (1931).

verfahren mit einem Gemisch von drei Raumteilen Chloroform und einem Raumteil Isopropylalkohol in Vorschlag gebracht. Allerdings muß bei der Untersuchung von Theophyllin-Natriumacetat vor dem Ausschütteln die Essigsäure durch Eindampfen mit etwas Schwefelsäure entfernt werden. Das durch Ausschütteln isolierte Theophyllin wird bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und nach dem Abkühlen gewogen.

Vor etwa 10 Jahren veröffentlichte H. Boie[1]) ein acidimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Theobromins. Dem Verfahren liegt das Prinzip zugrunde, daß das Theobromin infolge seiner Imidgruppe mit wasserlöslichen Silbersalzen (wie Silbernitrat) in das schwerlösliche Theobrominsilber unter Freiwerden einer äquivalenten Menge von Säure übergeht, die sich in Gegenwart eines geeigneten Indikators (wie Phenolrot) mit carbonatfreier Lauge leicht titrieren läßt. Das Verfahren ist in Gegenwart von schwachen Säuren (wie Essigsäure), ebenso nach eigenen Versuchen in Gegenwart von schwachen Basen (wie Äthylendiamin oder Diäthanolamin) nicht brauchbar.

In unserer praktischen Arbeit haben wir das Verfahren von Boie nicht nur zur Bestimmung des Theobromins, sondern auch zu der des Theophyllins mit gutem Erfolg angewendet. Die direkte Anwendung der Methode versagte bei uns, wie schon erwähnt, bei der Prüfung des Theophyllin-Natriumacetats, des Theophyllin-Äthylendiamins und Theophyllin-Diäthanolamins. Das Isolierverfahren von Reimers hat dagegen bei der Prüfung von Theophyllin-Natriumacetat und Theophyllin-Äthylendiamin gute Dienste geleistet. Wir versuchten nun, das Titrierverfahren von Boie beim Theophyllin-Natriumacetat gleich nach dem Verjagen der Essigsäure nach Reimers, aber ohne vorherige Isolierung des Theophyllins anzuwenden. Wir erhielten sehr gute Ergebnisse.

Ein Ausschütteln des Theophyllins aus der sauren Lösung des Theophyllin-Äthylendiamins erwies sich ebenfalls als überflüssig, da das Äthylendiamin bereits beim „Austrocknen" der festen Untersuchungssubstanz bei 100° C während 2 Stdn. völlig entweicht. Beim Ausschütteln des Theophyllins aus Theophyllin-Diäthanolamin konnte das Verfahren von Reimers keine Anwendung finden, da das Diäthanolamin in Abhängigkeit von der Größe der wäßrigen Phase teilweise mit ausgeschüttelt wird. Somit entstand nun die Notwendigkeit, eine auf anderem Prinzip beruhende Trennungsmethode ausfindig zu machen.

Im Jahre 1924 wies L. W. Winkler[2]) auf die Schwerlöslichkeit der Natriumverbindung des Theophyllins in starker Natronlauge hin. Diese Tatsache wurde von uns schon bei der Trennung der Barbitursäurederivate[3]) von Theophyllin verwendet.

---

[1]) Pharm. Ztg. **75**, 968 (1930); vgl. diese Ztschrft. **87**, 316 (1932). — [2]) Pharm. Zentralhalle **65**, 557 (1924). — [3]) Diese Ztschrft. **112**, 404 (1938).

Eine vollkommene Trennung des Theophyllins in Form seiner Natriumverbindung konnte nun nicht nur vom Natriumacetat, Äthylendiamin, Diäthanolamin, sondern auch von den eingangs erwähnten organischen Quecksilberkomplexverbindungen, ja sogar unter bestimmten Verhältnissen von dem isomeren Theobromin durchgeführt werden. Bei der Bestimmung des Theophyllins bedienten wir uns der acidimetrischen Methode von Boie.

Das ganze Isolier- und Bestimmungsverfahren geben wir nun so an, wie es sich in unseren zahlreichen Versuchen am besten bewährt hat.

Beschreibung des Verfahrens.

Reagenzien:

30%ige Natronlauge (30 *g* NaOH in rotulis, in 70 *ccm* Wasser gelöst).
10%ige Schwefelsäure.
Eine etwa 0,1 n-Schwefelsäure.
Carbonatfreie 0,1 n-Natronlauge.
Wäßrige 0,02%ige Phenolrotlösung (0,1 *g* Phenolrot, mit 11,4 *ccm* 0,1 n-Natronlauge verrieben und mit Wasser auf 500 *ccm* ergänzt).
Eine etwa 0,1 n-Silbernitratlösung.

Die genau gewogene Untersuchungssubstanz — etwa 0,05 bis 0,20 *g* Theophyllin entsprechend — wird in einem Erlenmeyerkolben von 50 *ccm* Inhalt unter gelindem Erwärmen in 5 *ccm* Wasser gelöst. Man versetzt die Lösung mit 5 *ccm* 30%iger Natronlauge, erwärmt die Flüssigkeit bis zum Kochen und läßt sie abkühlen. Unterdessen bereitet man ein Wattefilter, indem man etwa 0,15 bis 0,20 *g* reinste Baumwolle in einen Trichter von 5 *ccm* Durchmesser legt und sie mehrmals zwecks Mercerisierung mit 15%iger Natronlauge auswäscht. Nach etwa 10 Min. gießt man die niederschlaghaltige, stark natronalkalische Lösung in einem Guß auf das Wattefilter. Sollte von dem Niederschlag (Theophyllin-Natrium) etwas durch das Wattefilter gehen — was allerdings selten der Fall ist —, so gießt man das Filtrat nochmals auf das Filter. Ist das Filtrat klar, so wäscht man das auf dem Filter befindliche Theophyllin-Natrium 3mal mit je 3 *ccm* 15%iger Natronlauge aus, die aus der 30%igen Lauge durch Verdünnung frisch hergestellt worden ist.

Man stellt nun den Trichter mit dem Niederschlag auf einen Erlenmeyerkolben von 250 *ccm* Inhalt und löst das Theophyllin-Natrium mit 120 *ccm* kochend heißem Wasser in kleinen Anteilen auf. Um das Auflösen zu erleichtern, wird das Wattefilter mit einem Glasstab mehrmals durchgeknetet. Man säuert die alkalische Theophyllinlösung mit 10%iger Schwefelsäure leicht an, kocht die saure Flüssigkeit etwa 2 Min. lang, um die etwa gelöste Kohlensäure zu vertreiben, und stellt sie nach Abkühlen unter der Wasserleitung auf etwa 40° C mit 0,1 n-Natronlauge in Gegenwart von 1,5 *ccm* Phenolrotlösung als Indikator deutlich alkalisch ein.

Tabelle I.

Nr.	Untersuchte Substanz	Einwage an Theophyllin *mg*	Einwage an Theobromin *mg*	Beigemengte Substanz *mg*	Verbraucht wurden *ccm* 0,1 n-Natronlauge zur Bestimmung von: Theophyllin	Theobromin	Gefunden: Theophyllin *mg*	Theophyllin % der Einwage	Theobromin *mg*	Theobromin % der Einwage	Anmerkung
1	Theophyllin	51,4	—	—	2,84	—	51,160	99,53	—	—	
2	„	52,6	—	—	2,90	—	52,241	99,32	—	—	
3	„	196,6	—	—	10,84	—	195,26	99,33	—	—	
4	„	186,4	—	—	10,27	—	185,00	99,25	—	—	
5	„	96,5	—	—	5,41	—	97,456	100,99	—	—	
6	„	97,9	—	Natriumacetat 100 *mg*	5,40	—	97,275	99,36	—	—	Ohne Verjagen der Essigsäure mit NaOH gefällt
7	„	94,2	—	„	5,24	—	94,393	100,2	—	—	„
8	Theophyllin-Natriumacetat	198,8	—	—	6,13	—	110,43	55,55	—	—	Nach Verjagen der Essigsäure mit NaOH gefällt
9	„	199,3	—	—	6,14	—	110,60	55,50	—	—	„
10	„	194,3	—	—	5,96	—	107,37	55,26	—	—	„
11	Theophyllin + Theobromin	70,2	33,8	—	3,92	1,90	70,614	100,59	34,226	101,26	
12	„	36,9	75,2	—	2,04	4,23	36,748	99,59	76,20	101,33	
13	Theophyllin	390,6	—	Theobromin 50 *mg*	21,47	—	386,76	99,02	—	—	

14	Theophyllin	96,5	—	Theobromin Natr. sal. 200 *mg*	5,37	—	96,734	100,24	—	—	
15	„	92,3	—	„	5,13	—	92,412	100,12	—	—	
16	„	48,9	—	Theobromin 400 *mg*	2,40	—	43,233	88,41	—	—	Nach 24 Stunden abfiltriert
17	„	45,0	—	Theobromin 400 *mg* Natr. sal. 300 *mg*	2,34	—	42,153	93,67	—	—	Nach 48 Stunden abfiltriert
18	Euphyllin = Theophyllin-Äthylendiamin	202,9	—	—	9,09	—	163,75	80,70	—	—	
19	„	193,8	—	—	8,71	—	156,90	80,96	—	—	
20	Deriphyllin = Theophyllin-Diäthanolamin	200,7	—	—	5,14	—	92,592	46,13	—	—	Theophyllingehalt berechnet 46,12%
21	„	227,8	—	—	5,85	—	105,39	46,26	—	—	„
22	Esidron, Natriumsalz des Chinolinsäuremonoxypropylamidmercuritheophyllins	208,7	—	—	3,29	—	59,267	28,40	—	—	Theophyllingehalt angegeben 28%
23	„	186,1	—	—	2,90	—	52,241	28,07	—	—	„
24	Tabletten von je 186 *mg* [75 *mg* Digitalis pulv., 25 *mg* Scilla pulv., 75 *mg* Theophyllin-Natriumacetat (Theophyllingehalt 50%), 10 *mg* salzsaures Ephedrin, 1,5 *mg* Strophantin *G*, Bindemittel]	342,9	—	—	3,80	—	68,453	19,97	—	—	Berechneter Theophyllingehalt 20,16%

Zu dieser alkalischen Lösung wird tropfenweise so viel 0,1 n-Schwefelsäure zugegeben, daß die Farbe des Reaktionsgemisches in Citronengelb umschlägt. Nun versetzt man die Lösung mit etwa 25 bis 30 *ccm* 0,1 n-Silbernitratlösung im Überschuß und titriert die freigewordene, dem Theophyllin äquivalente Menge Salpetersäure mit 0,1 n-Natronlauge. Den Endpunkt zeigt die tief himbeerrote Farbe des Reaktionsgemisches an.

Nach einiger Übung sind die Farbumschläge des Indikators ($p_H = 6{,}8$ bis 8,4) „citronengelb" und „tief himbeerrot" leicht zu erkennen. — 1 *ccm* 0,1 n-Natronlauge entspricht 18,014 *mg* Theobromin oder Theophyllin (wasserfrei).

Im Zusammenhang mit dem soeben beschriebenen Verfahren muß folgendes bemerkt werden.

Beim Theophyllin-Natriumacetat und Theophyllin-Äthylendiamin kann die beschriebene Isolierung, wie schon eingangs erwähnt worden ist, unterlassen werden. Im ersten Fall muß dann die Essigsäure durch Eindampfen mit verdünnter Schwefelsäure in kleinem Überschuß nach Reimers entfernt werden. Im Fall des Theophyllin-Äthylendiamins kann das Äthylendiamin durch 2stündiges „Trocknen" bei 100° C im Trockenschrank verjagt werden. Die Isolierung des Theophyllins in Form seines Natriumsalzes ist aber auch bei diesen Präparaten vorzuziehen.

Wie aus den in der Tab. I (S. 116/17) zusammengestellten Ergebnissen ersichtlich ist, eignet sich das Verfahren aber auch zur Prüfung des Deriphyllins (Theophyllin-Diäthanolamin) und der organischen Quecksilbersalze mit Theophyllinzusatz, sogar der Theophyllin-Theobromingemische, wenn der Theophyllingehalt des Gemisches im letzteren Fall nicht unter 15% sinkt.

Ist die Menge des zu bestimmenden Theophyllins gering (nicht mehr als 0,05 *g*), so ist es ratsam, das Theophyllin-Natrium in allen Fällen erst nach 24stündigem Stehenlassen abzufiltrieren.

Wünscht man auch andere Bestandteile eines Arzneigemisches neben dem Theophyllin — wie z. B. das Theobromin — zu bestimmen, so kann die Bestimmung nach dem Abfiltrieren des Theophyllin-Natriums aus dem stark alkalischen Filtrat mit entsprechenden Methoden (z. B. Bestimmung des Theobromins nach dem Verfahren von Boie) erfolgen.

Bei der Prüfung von Arzneispezialitäten (Tab. I, Nr. 24, S. 117), wie Tabletten usw. kann vorteilhaft mit einer leicht alkalischen Stammlösung gearbeitet werden.

Die Genauigkeit des beschriebenen Verfahrens beträgt 1 bis 1,5% und muß in Anbetracht der Schwierigkeiten, mit denen die Isolierung des Theophyllins verbunden ist, als recht befriedigend bezeichnet werden.

Einige Derivate der Indangruppe als Reagenzien auf Amine.

III. Nachweis primärer Aminogruppen mittels Bindons.

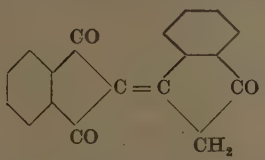
Von

Gustav Wanag.

Aus dem Organischen Laboratorium der staatlichen Universität Lettlands in Riga.

[Eingegangen am 3. April 1941.]

In den ersten beiden Mitteilungen[1]) habe ich gezeigt, daß Bindon (Anhydro-bis-indandion) ein spezifisches und empfindliches Reagens zum



Nachweis primärer Amine ist. Es gibt mit aromatischen primären Mono-, Di- und Polyaminen in Eisessig eine blaue, bei sehr verdünnten Lösungen eine grüne, mit aliphatischen primären Aminen eine violette Färbung. Von anderen Verbindungen zeigen eine entsprechende Reaktion noch sekundäre aromatisch-aliphatische und rein aliphatische Amine; bei letzteren tritt aber die Reaktion nur bei sehr großer Konzentration auf.

Zum Schluß wurde die Reaktion auch auf solche Aminoverbindungen ausgedehnt, die außer primären Aminogruppen noch andere funktionelle Gruppen enthalten. Es zeigte sich, daß auch hier die Reaktion in sehr vielen Fällen positiv ist; die größere oder kleinere Empfindlichkeit oder sogar das Versagen der Reaktion ist aber von der Art, Zahl und Stellung der Substituenten abhängig. So geben im Kern monohalogenierte Aniline mit Bindon eine blaue Färbung, die bei der para-Verbindung am empfindlichsten, bei der meta-Verbindung etwas weniger, bei der ortho-Verbindung dagegen am wenigsten empfindlich ist. Bei den ortho-Verbindungen in größerer Verdünnung tritt aber statt einer grünen Farbe eine violette auf, was auch schon früher in einigen Fällen beobachtet worden ist (Mesidin, 1,3,2-Xylidin, monoacylierte o-Phenylendiamine u. a.). Anhäufung der Halogene im Molekül ist für die Empfindlichkeit der Reaktion nicht günstig; so gibt z. B. Tribromanilin die Reaktion nicht mehr. Dagegen tritt sie bei Tetrachlorbenzidin ein.

Alle drei Aminophenole geben mit Bindon eine positive Reaktion, die nicht nur bei para- und meta-, sondern auch bei ortho-Aminophenol, wenn auch etwas weniger, so doch noch hochempfindlich ist. Das ist für

[1]) Diese Ztschrft. **113**, 21 (1938); **119**, 413 (1940).

den Nachweis einer primären Aminogruppe sehr wichtig, da es bekannt ist, daß Aminophenole nicht in normaler Weise diazotierbar und also in der gewöhnlichen Weise nicht nachweisbar sind. Auch mit Aminonaphtholen sowie mit Di- und Triaminophenolen ist die Reaktion positiv. Ebenso positiv ist sie auch bei den Äthern der Phenole (Anisidine, Phenetidine, Dianisidine u. a.), mit Aminoacetophenonen, Diaminobenzophenon und Aminobenzaldehyden.

Es wurde ferner festgestellt, daß auch die Carboxylgruppe die Reaktion nicht stört. Letztere ist positiv bei allen drei Aminobenzoesäuren und ihren Estern, wobei nur bei ortho-Verbindungen die Färbung mehr oder weniger violettstichig ist. Da die tertiäre Aminogruppe diese Reaktion nicht stört, so geben diese positiv auch Novocain, Tutocain, Larocain und andere Lokalanästhetica der p-Aminobenzoesäure, wie ich das schon in der ersten Mitteilung bemerkt habe[1]). Ebenso positiv ist die Reaktion bei Aminophthalsäuren, ihren Anhydriden und Hydraziden, bei Aminosalicylsäure, Di- und Triaminobenzoesäure u. a.

Die freie Sulfogruppe verhindert die Reaktion. So geben z. B. Sulfanilsäure, Naphthionsäure u. a. die Reaktion nicht. Verwendet man aber statt der freien Säure ihre Salze oder gibt man zur Lösung oder Suspension der Säure in Eisessig Natriumacetat zu, so ist die Reaktion auch hier positiv[2]). Ebenso stört die Sulfamidgruppe die Reaktion nicht, so daß diese auch positiv ist bei Sulfanilsäureamid (Prontosil) sowie bei vielen Derivaten des Sulfanilamids, die eine freie primäre aromatische Aminogruppe enthalten und nicht Azofarbstoffcharakter haben (Uliron, Sulfopyriden u. a.). Ist die genannte Aminogruppe acetyliert, so versagt, in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen[3]), auch hier die Reaktion.

Der Einfluß der Nitrogruppe ist negativ. Die Nitrogruppe in der meta- und besonders in der para-Stellung zur Aminogruppe setzt die Empfindlichkeit der Reaktion in der Regel stark herab und gibt eine violettstichige Blaufärbung (bei größerer Verdünnung Violettfärbung), in ortho-Stellung verhindert sie die Reaktion völlig. Diese Erscheinung kann man also ausnutzen, um nachzuweisen, ob sich eine Nitrogruppe in ortho- oder meta- und para-Stellung zur Aminogruppe befindet. Sind im Molekül zwei Nitrogruppen (Pikraminsäure) oder eine Nitrogruppe und eine andere negative Gruppe (Nitro-anthranilsäure, p-Nitranilin-o-sulfosäure) vorhanden, so ist auch hier die Reaktion negativ. Dagegen reagiert Jodanthranilsäure positiv, wenn auch die Reaktion etwas träger auftritt und auch nicht hochempfindlich ist.

In Farbstoffen mit freien primären Aminogruppen sind diese mit Bindon nicht nachweisbar. So versagt die Reaktion schon bei Amino-

[1]) Diese Ztschrft. **113**, 31 (1938), Fußnote 1. — [2]) Diese Ztschrft. **113**, 25 (1938). — [3]) Diese Ztschrft. **113**, 31 (1938).

azobenzol, ebenso bei Benzolazonaphthylaminen, Chrysoidin, Prontosil rubrum u. a., ebenso bei Fuchsin und seiner Farbbase, während die Leukobase des Fuchsins in normaler Weise die Reaktion gibt. Ebenso negativ ist die Reaktion mit β-Aminoanthrachinon, 1,2-Diamino-β-anthrachinonsulfosäure-(3), Rivanol, Trypaflavin u. a. Zerstört man aber den Chromophor z. B. unter Reduktion des β-Aminoanthrachinons (oder Fuchsins) mit Zinkstaub und Eisessig, bis die Farbe aufhellt, gießt dann die Flüssigkeit auf Bindon und kocht auf, so erhält man eine scharfe positive Reaktion. Bei 1,2-Diamino-β-anthrachinonsulfosäure-(3) gelingt die Reaktion nur dann, wenn man am Anfang der Reduktion noch wasserfreies Natriumacetat zusetzt. Das könnte man so erklären, daß unter diesen Bedingungen bei der Reduktion zum Teil auch Acetylderivate des Anthrahydrochinons entstehen, welche die rasche Oxydierung zurück zum Anthrachinon-Derivat verhindern[1]). — Bei der Reduktion der Azoverbindungen entstehen neue primäre Aminogruppen, welche die positive Reaktion mit Bindon geben. Folgender Versuch zeigt aber deutlich, daß auch hier die chromophore Azogruppe die Ursache des Ausbleibens der Reaktion mit Bindon ist. Erwärmt man etwas p-Amino-azobenzol gelinde mit alkoholischer NaOH-Lösung und etwas Zinkstaub, bis die gelbe Farbe der Lösung verschwindet, gießt dann rasch etwas von der klaren Flüssigkeit in die warme Lösung des Bindons in Eisessig und erhitzt sofort, so färbt sich die Flüssigkeit rasch dunkelblau. Gießt man aber die alkoholische Lösung vom Zinkstaub ab und läßt sie einige Zeit unter Umschütteln stehen, so färbt sich die Flüssigkeit rasch wieder gelb unter Rückoxydation zu Aminoazobenzol und gibt dann mit Bindon und Eisessig eine nur schwache Reaktion (grüne Färbung). Bei Acridin-Farbstoffen zerstört auch Behandlung mit Zinkstaub und Eisessig den Chromophor nicht, weshalb z. B. die Aminogruppe in Trypaflavin auch auf diese Weise nicht nachweisbar ist.

Diazoaminobenzol gibt bei längerem Kochen positive Reaktion mit Bindon. Da diese nicht durch Umlagerung in Aminoazobenzol hervorgerufen sein kann, weil letzteres selbst diese Reaktion nicht gibt, muß man annehmen, daß hier durch Bindon eine Spaltung unter Freimachung des Anilins vor sich geht. Ebenso kann man die positive Reaktion mit den Schiffschen Basen nur durch die Spaltung der Schiffschen Base unter Regenerierung des primären Amins erklären.

Aminopyridine mit der Aminogruppe in α-Stellung geben mit Bindon keine positive Reaktion (in großen Konzentrationen gibt 2-Aminopyridin eine violettbraune Färbung, 2,6-Diaminopyridin dagegen nur eine bräunliche Färbung), da sie keinen aromatischen Charakter besitzen, dagegen reagieren Pyridine mit der Aminogruppe in meta-Stellung positiv (Blaufärbung).

[1]) Vgl. C. Liebermann, Ber. Deutsch. Chem. Ges. 21, 435, 1172 (1888).

Tabelle I.

Aminoverbindung	Herkunft (Firma)	Qualität	Verdünnung, bei der noch die blaue	grüne Färbung zu beobachten ist
o-Chloranilin	Sche-K	reinst	$^n/_{500}$	$^n/_{4000}$ (violett)
m- „	Sche-K	reinst	$^n/_{4000}$	$^n/_{10000}$
p- „	Sche-K	„Kahlbaum“	$^n/_{4000}$	$^n/_{20000}$
p-Bromanilin	E. D.	—	$^n/_{5000}$	$^n/_{20000}$
o-Jodanilin	Sche-K	—	$^n/_{100}$	$^n/_{5000}$ (violett)
m- „	Sche-K	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{20000}$
p- „	Sche-K	—	$^n/_{4000}$	$^n/_{30000}$
Tribromanilin	Sche-K	—	—	—
Tetrachlorbenzidin	E. D.	—	+	
Chlorphenylendiamin	D. R.	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{4000}$
($Cl:NH_2:NH_2 = 1:2:4$) Chlordinitrobenzol				
Bromphenylendiamin	D. R.	—	$^n/_{2000}$	
($Br:NH_2:NH_2 = 1:2:4$) Bromdinitrobenzol				
Triaminochlorbenzol ($Cl:NH_2:NH_2:NH_2 = 1:2:4:6$) (HCl)	Fr-L	—	+	
o-Nitranilin	Sche	reinst	—	—
m- „	Sche	rein	$^n/_{1000}$	$^n/_{5000}$ (violett)
p- „	Sche	reinst	$^n/_{100}$	$^n/_{1000}$ (violett)
Nitrotoluidin ($CH_3:NH_2:NO_2 = 1:4:2$)	Schu	—	$^n/_{4000}$	$^n/_{20000}$
„ („ „ „ $= 1:2:4$)	E. D.	—	$^n/_{100}$	$^n/_{1000}$
„ („ „ „ $= 1:2:3$)	Sche-K	—	—	—
„ („ „ „ $= 1:2:5$)	Sche-K	—	$^n/_{100}$	$^n/_{1000}$ (violett)
„ („ „ „ $= 1:4:3$)	Sche-K	—	—	—
4-Nitro-2-amino-diphenylamin	E. D.	—	—	—
1-Nitro-2-aminofluoren	E. D.	—	—	—
7-Nitro-2-aminofluoren	E. D.	—	+	+
4-Nitro-o-phenylendiamin (HCl)	—	—	+ (violett)	
2,2′-Dinitrobenzidin	E. D.	—	$^n/_{100}$	$^n/_{2000}$
o-Aminophenol	M	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{10000}$
m- „	M	—	$^n/_{5000}$	$^n/_{15000}$
p- „	M	reinst	$^n/_{5000}$	$^n/_{15000}$
Aminothymol	D. R.	—	$^n/_{2000}$	
Nitrosothymol				
1-Amino-2-naphthol	E. D.	—	$^n/_{100}$	$^n/_{1000}$
2-Amino-1-naphthol	D. R.	—	$^n/_{1000}$	$^n/_{4000}$
β-Nitroso-α-naphthol				
Diaminophenol ($OH:NH_2:NH_2 = 1:2:4$) (HCl)	M	—	$^n/_{1000}$	$^n/_{6000}$
Diaminoanisol (1:3:5)	D. R.	—	$^n/_{2000}$	
Dinitroanisol				
Diamino-β-naphthol	D. R.	—	+	

Aminoverbindung	Herkunft (Firma)	Qualität	Verdünnung, bei der noch die blaue	grüne Färbung zu beobachten ist
Dinitro-β-naphthol				
Triaminophenol	D. R.	—	$^n/_{100}$	
Pikrinsäure				
Triaminoresorcin	D. R.	—	$^n/_{150}$	
Styphninsäure				
o-Anisidin	Sche-K	—	$^n/_{5000}$	$^n/_{15000}$
p- „	Sche-K	—	$^n/_{5000}$	$^n/_{20000}$
o-Phenetidin	Sche-K	gereinigt	$^n/_{2000}$	$^n/_{5000}$
m- „	Schu	—	+	
p- „	E. Đ.	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{20000}$
p-Amino-phenoxyessigsäureäthylester	D. R.	—	$^n/_{4000}$	
p-Nitro-phenoxyessigsäureäthylester				
o-Aminobenzylalkohol	D. R.	—	$^n/_{2000}$	
o-Nitrobenzylalkohol				
o-Dianisidin	Schu	reinst	$^n/_{100}$	$^n/_{4000}$
o-Aminobenzaldehyd	D. R.	—	+	
o-Nitrobenzaldehyd				
p-Aminobenzaldehyd	D. R.	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{4000}$
p-Nitrobenzaldehyd				
p,p′-Diaminobenzophenon	D. R.	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{4000}$
p,p′-Dinitrobenzophenon				
β-Aminoanthrachinon	Schu	reinst	—	—
o-Aminobenzoesäure	Sche-K	—	$^n/_{1000}$	$^n/_{10000}$
m- „	M	—	$^n/_{5000}$	$^n/_{15000}$
p- „	M	—	$^n/_{5000}$	$^n/_{15000}$
p-Aminosalicylsäure	R-H	—	+	+
3-Aminophthalsäure	D. R.	—	$^n/_{250}$	$^n/_{500}$
3-Nitro-phthalsäure				
4-Aminophthalsäureanhydrid	D. R.	—	$^n/_{200}$	$^n/_{500}$
4-Nitrophthalsäureanhydrid				
Aminophthalsäurehydrazid (HCl)	M	—	+	
o-Aminozimtsäure	E. D.	—	+	
m- „	D. R.	—	$^n/_{4000}$	
m-Nitrozimtsäure				
p-Aminozimtsäure	E. D.	—	+	
Diaminobenzoesäure	D. R.	—	$^n/_{1000}$	
Dinitrobenzoesäure				
Triaminobenzoesäure	D. R.	—	+	
Trinitrobenzoesäure				
2-Amino-5-jodbenzoesäure	E. D.	—	$^n/_{200}$	$^n/_{1000}$
p-Nitro-o-aminobenzoesäure	Sche-K	gereinigt	—	—
o-Aminobenzoesäuremethylester	E. D.	—	$^n/_{1000}$	$^n/_{5000}$
o- „ äthylester (Anästhesin)	—	—	$^n/_{2000}$	$^n/_{20000}$
m- „ äthylester	D. R.	—	$^n/_{2000}$	

Aminoverbindung	Herkunft (Firma)	Qualität	Verdünnung, bei der noch die blaue	grüne Färbung zu beobachten ist
m-Nitrobenzoesäureäthylester				
p-Aminozimtsäureäthylester	D. R.	—	$^{n}/_{4000}$	
p-Nitrozimtsäureäthylester				
Novocain (HCl)	B	—	$^{n}/_{5000}$	$^{n}/_{20000}$
Tutocain (HCl)	B	—	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{5000}$
Larocain (HCl)	H-R	—	$^{n}/_{2000}$	$^{n}/_{20000}$
Sulfanilsäure	M	—	+	+
Sulfanilsäureamid	Sche-K	—	$^{n}/_{4000}$	$^{n}/_{5000}$
Sulfanilsäuredimethylamid	E. D.	—	+	
Uliron	B	—	+	
2-Sulfanil-aminopyridin	E. D.	—	+	
m-Aminobenzolsulfosäure (Metanilsäure)	Schu	—	+	
o-Toluidinsulfosäure	—	—	+	
($CH_3:NH_2:SO_3H = 1:2:3$)				
p-Toluidinsulfosäure	E. D.	—	+	
($CH_3:NH_2:SO_3H = 1:4:2$)				
Naphthionsäure	K	—	+	
1,2-Diaminoanthrachinonsulfosäure-(3)	Schu	—	—	—
p-Phenylendiaminsulfosäure	E. D.	—	+	+
p-Amino-diphenylaminsulfosäure	—	—	+	+
Naphthylamin-(1)-sulfosäure-(2)	E. D.	—	+	+
6-Aminotoluol-disulfosäure-(3,4)	Schu	—	+	
1-Amino-8-naphthol-3,6-disulfosäure (H-Säure)	Schu	—	—	+
2-Amino-8-naphthol-3,6-disulfosaures Natrium	Fr-L	rein	+	+
p-Nitranilin-o-sulfosäure	—	—	—	—
Arsanilsäure	E. D.	—	+	
p-Aminoazobenzol u. a. Aminoazoverbindungen			—	—
Methylenphenylamin	R-H	—	+	+
Benzalanilin	E. D.	—	$^{n}/_{4000}$	$^{n}/_{8000}$
Benzal-o-toluidin	E. D.	—	+	+
Benzal-p-toluidin	E. D.	—	$^{n}/_{2000}$	$^{n}/_{20000}$
p-Dibenzalbenzidin	Sche-K	—	$^{n}/_{1000}$	$^{n}/_{8000}$
Diazoaminobenzol	E. D.	—	$^{n}/_{100}$	$^{n}/_{8000}$
2-Aminopyridin	Sche-K	—	—	—
2,6-Diaminopyridin	Sche-K	—	—	—
5-Amino-2-oxy-pyridin	D. R.	—	$^{n}/_{500}$	
5-Nitro-2-oxy-pyridin				
5-Amino-2-chlor-pyridin	D. R.	—	+	
2-Chlor-5-nitro-pyridin				
p-Aminodiäthylanilin	D. R.	—	$^{n}/_{2000}$	
p-Nitrosodiäthylanilin				
m-Aminodimethylanilin	D. R.	—	+	
m-Nitrodimethylanilin				
2,4-Diamino-diphenylamin	D. R.	—	+	+
4-Nitro-2-amino-diphenylamin				
2,3-Diaminofluoren	E. D.	—	—	+
9-Benzal-2-aminofluoren	E. D.	—	+	+

Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse in Tab. I (S. 122/124) zusammengestellt. In einigen Fällen ist statt der freien Base das entsprechende Salz verwendet worden. Bei der Ausführung der Reaktion wird dann immer eine äquivalente Menge (oder etwas mehr) Natriumacetat zugesetzt. Die entsprechende Säure ist beim Namen der Base in Klammern angeführt. Ebenso muß man bei den Aminosulfosäuren immer Natriumacetat zusetzen. In einigen Fällen, wo die entsprechenden Verbindungen in Eisessig sehr wenig löslich waren (z. B. viele anorganische Salze der Amine, verschiedene Sulfosäuren oder ihre Salze) oder in ungenügenden Mengen zu unserer Verfügung standen oder nicht ganz rein waren, ist die Reaktion nur qualitativ geprüft worden; hier bedeutet „+" eine positive und „—" eine negative Reaktion. Ferner bedeutet: M = Merck, K = Kahlbaum, Sche = Schering, Fr-L = Fraenkel und Landau, Schu = Schuchardt, R-H = Riedel-de Haën, B = Bayer, H-R = Hoffmann-La Roche, E. D. = Eigene Darstellung, D. R. = Dargestellt durch Reduktion der darunter angegebenen Verbindung[1]). Zusammen mit den substituierten Aminen sind auch hier und da noch einige nichtsubstituierte Amine untersucht worden.

Sekundäre aromatisch-aliphatische Amine geben mit Bindon dieselbe Färbung wie primäre aromatische Amine. Ebenso verhalten sich auch die obengenannten Amine, wenn diese andere funktionelle Gruppen enthalten. So ist die Reaktion positiv (Tabelle II, S. 126), wenn auch häufig weniger empfindlich als mit primären aromatischen Aminen, mit Metol (p-Methylaminophenol), Methylanthranilsäure, Pantocain, Methylen-di-o-anisidin, Methylen-di-p-phenetidin u. a. Die im Kern sitzenden negativen Gruppen wirken auch hier ungünstig; so ist die Reaktion positiv bei Phenylglycin, versagt aber bei p-Nitrophenylglycin sowie bei Phenylglycin-o-carbonsäure, bei m-Nitro-N-methylanilin u. a.

Sekundäre rein aromatische und alle tertiären Amine geben, falls in ihren Kern funktionelle Gruppen eingeführt sind, auch keine charakteristische Färbung, z. B. Phenyl-anthranilsäure, m-Diäthylaminophenol, p-Nitrosodimethylanilin, m-Nitrodimethylanilin, p-Dimethylaminobenzaldehyd, m-Diäthylaminosulfosäure u. v. a. Dagegen geben Indol, α-Methyl-indol und 7-Methyl-indol mit Bindon eine grüne Färbung, da diese als N-monoalkylierte aromatische Amine anzusehen sind.

Primäre Amine mit aliphatischem Charakter und verschiedenen funktionellen Gruppen geben mit Bindon, ähnlich wie nichtsubstituierte primäre aliphatische Amine eine violette Färbung; so stören Hydroxyl-, Aldehyd- und Ketogruppen sowie in der Kette eingeführte nichtsubstituierte oder substituierte Phenylgruppen die Reaktion nicht, so daß diese z. B. bei Äthanolamin, ω-Aminoacetophenon, Glucosamin, Mescalin,

[1]) Diese Ztschrft. **119**, 416 (1940), Fußnote 1.

1,3-Diaminopropanol u. a. positiv ist (Tabelle III, S. 127). Freie Sulfogruppen stören auch hier die Reaktion, z. B. gibt Taurin keine Reaktion mit Bindon; die Reaktion tritt aber auf, wenn man auch hier, wie bei den aromatischen Sulfosäuren, etwas Natriumacetat zusetzt.

Es ist bemerkenswert, daß auch die verschiedensten Aminosäuren sowie ihre Ester mit derselben Leichtigkeit und mit ungefähr derselben Empfindlichkeit wie primäre aliphatische Amine mit Bindon positiv

Tabelle II.

Aminoverbindung	Herkunft (Firma)	Qualität	Verdünnung, bei der noch die blaue | grüne Färbung zu beobachten ist	
p-N-Methylaminophenol (Metol) . .	—	—	$^n/_{100}$	$^n/_{500}$
m-N-Äthylaminophenol	Schu	reinst	$^n/_{50}$ (violett)	
Pantocain (HCl)	B	—	—	$^n/_{1000}$
N-Methylanthranilsäure	E. D.	—	$^n/_{10}$	$^n/_{100}$
p-N-Methylaminobenzoesäure	E. D.	—	+	
Methylen-di-o-anisidin	E. D.	—	—	$^n/_{1000}$
Methylen-di-p-phenetidin	E. D.	—	—	$^n/_{500}$
m-Nitro-N-methylanilin	E. D.	—	—	—
Phenylglycin	E. D.	—	+	
p-Nitro-phenylglycin	Schu	—	—	—
o-Tolylglycin	E. D.	—	+	
Phenylglycin-o-carbonsäure	E. D.	—	—	—
Dianilidobernsteinsäure	E. D.	—	+	
Tetra-(anilinomethyl)-methan $C(CH_2.NHC_6H_5)_4$	E. D.	—	$^n/_{100}$	$^n/_{300}$
α-Anilino-triphenylmethan $(C_6H_5)_3C.NHC_6H_5$	E. D.	—	+	
Indol	M	—	—	$^n/_{40}$
α-Methylindol	Sche	—	—	$^n/_{1000}$
7- „	Schu	—	—	+
N-n-Butylanilin	Fr-L	gereinigt*)	$^n/_{200}$	$^n/_{600}$
N-Isobutylanilin	Fr-L	gereinigt*)	$^n/_{400}$	$^n/_{600}$
N-Methyl-α-naphthylamin	Fr-L	gereinigt*)	$^n/_{400}$	$^n/_{1500}$
N- „ -β- „	Fr-L	gereinigt*)	$^n/_{1000}$	$^n/_{2000}$

*) Da das von der genannten Firma bezogene Präparat noch primäres Amin enthielt, so wurde es nach einer unlängst beschriebenen Methode [vgl. G. Wanag, Latvijas Univers. Raksti, Acta Universitatis Latviensis, chem. Ser. 4, 405 (1939)] durch Kochen des Amins mit Phthalsäureanhydrid in Eisessig gereinigt, wobei das primäre Amin quantitativ als entsprechendes Phthalimid abgetrennt wird; dann wird aus der Lösung das sekundäre Amin durch Natriumhydroxyd ausgeschieden und durch Destillation gereinigt.

Tabelle III.

Aminoverbindung	Herkunft (Firma)	Qualität	Verdünnung, bei der noch die violette Farbe zu bemerken ist
Äthanolamin, $NH_2 . CH_2 . CH_2OH$	Sche-K	rein	$^n/_{1000}$
Monoäthanoläthylendiamin (HCl), $HO . CH_2 . CH_2 . NH . CH_2 . CH_2 . NH_2$	Sche-K	—	+
β-Phenyl-β-oxy-äthylamin (HCl)	H-R	—	+
Glucosamin (HCl)	Sche-K	—	+
ω-Amino-acetophenon (HCl)	Schu	—	$^n/_{500}$
1, 3-Diaminopropanol	Fr-L	—	$^n/_{800}$
Histamin (HCl)	M	—	+
Tyramin	H-R	—	$^n/_{1500}$
Mescalin (HCl)	Schu	—	$^n/_{1000}$
Taurin, $H_2N . CH_2 . CH_2 . SO_3H$	H-R	—	+
Glykokoll	M	—	$^n/_{1000}$
Glykokolester (HCl)	M	—	$^n/_{800}$
d, l-α-Amino-phenylessigsäure	Schu	—	+
d-Alanin	Sche-K	—	$^n/_{1000}$
Serin	E. D.	—	+
Cystein (HCl)	M	—	+
Cystin	M	—	—
d-Phenylalanin	Schu	—	$^n/_{3000}$
l-Dioxyphenylalanin	H-R	gereinigt	+
l-Tyrosin, $HO . C_6H_4 . CH_2 . CH(NH_2)COOH$	Sche-K	reinst	+
Dibromtyrosin	Schu	reinst	+
Dijodtyrosin	H-R	—	$^n/_{3000}$
l-Tryptophan	H-R	—	+
Histidin (HCl)	M	—	+
α-Aminobuttersäure	Sche-K	—	$^n/_{800}$
β- „	Schu	—	$^n/_{1000}$
α-Aminoisovaleriansäure	Sche-K	—	$^n/_{1000}$
Leucin	Sche-K	—	$^n/_{800}$
d-Arginin	H-R	—	+
d-Ornithin (HCl)	Schu	—	+
d-Lysin (HCl)	Schu	rein	+
Asparagin	Sche-K	—	+
Asparaginsäure	M	f. wiss. Zw.	+
Glutaminsäure (HCl)	Sche-K	—	$^n/_{800}$
l-Leucyl-glycin	H-R	—	+
Glycyl-l-leucin	H-R	—	$^n/_{2000}$
Glycyl-l-tyrosin	H-R	—	+
l-Leucyl-l-tyrosin	H-R	—	+
Glycyl-l-tryptophan	H-R	—	+
d-Leucyl-glycylglycin	H-R	—	+
Pepton	—	—	+
Casein (nach Hammarsten)	M	—	+
Albumin	—	—	+
Edestin	H-R	—	+
Conglutin	—	—	+
Benzalmethylamin	Sche-K	—	$^n/_{1000}$
Benzaläthylamin	Sche-K	—	+
2,3-Diaminobutan ($H_2C_2O_4$)	E. D.	—	+
Pyrrolidin	H-R	—	$^n/_{1000}$ (blau)
l-Prolin	H-R	—	+ (blau)

reagieren. Von den sehr vielen untersuchten Aminosäuren, die bei der Spaltung der Proteine entstehen, versagt die Reaktion nur bei Cystin, vielleicht wegen völliger Unlöslichkeit des Cystins in Eisessig. Die in der Kette vorhandene Phenylgruppe ist ohne irgendeinen negativen Einfluß, ja die Empfindlichkeit steigt sogar in einigen Fällen (vgl. d-Alanin und d-Phenylalanin, ebenso Dijodtyrosin u. a. Tab. III, S. 127). Di- und Tripeptide geben auch positive Reaktion, ebenso Pepton und Proteine, z. B. Casein, Albumin, Edestin, Conglutin, Gelatine u. a. Mit Proteinen, die in Eisessig schwer löslich sind, tritt die Reaktion etwas langsamer auf. So gibt z. B. Casein, das in Eisessig löslich ist, ziemlich rasch eine positive Reaktion mit Bindon; dagegen gibt die höchstmolekulare Fraktion des Caseins[1]), die in Eisessig schwer löslich ist, eine viel schwächere Reaktion. Die Abbauprodukte des Caseins durch heißes Glycerin[2]) dagegen geben rasch eine scharfe Reaktion mit Bindon. Auch ein Stückchen Käse, der, wie bekannt, Abbauprodukte des Caseins enthält, gibt mit Bindon eine scharfe positive Reaktion. Es ist interessant, daß auch Desaminocasein mit Bindon noch eine schwache positive Reaktion gibt. Hier bleibt natürlich die Frage offen, ob bei der Desaminierung nicht alle primären Aminogruppen eliminiert sind oder beim Kochen in Eisessig ein weiterer Abbau des Caseins unter Bildung von neuen primären Aminogruppen stattfindet.

Die Reaktion gelingt auch direkt mit dem Weißen und mit dem Dotter des Hühnereis, wobei beim letzteren die Reaktion rascher und intensiver auftritt. Aus diesen Tatsachen kann man schließen, daß entweder der Dotter niedrigere molekulare Proteine als das Weiße enthält, oder daß sich in diesen Proteinen mehr freie primäre Aminogruppen befinden. Ebenso tritt die Reaktion, wenn auch ziemlich schwach und langsam, auch direkt mit Milch auf, wenn man diese mit der etwa 20fachen Menge Eisessig (hier besser 99—100%ig) verdünnt und längere Zeit mit Bindon kocht.

Rein aliphatische sekundäre Amine mit anderen funktionellen Gruppen im Molekül verhalten sich im ganzen wie die entsprechenden nichtsubstituierten Amine, das heißt, sie geben positive Reaktion (violette Färbung) nur in großen Konzentrationen. In etwas verdünnteren Lösungen geben diese aber nur bräunliche oder gelbe Färbungen, z. B. Diäthanolamin, Sarkosin, Ephedrin, Adrenalin, Amarin, 2,4-Dimethylpyrroldicarbonsäurediäthylester, 2,4-Dimethylpyrrol u. a., sowie alle Verbindungen mit einer oder mehreren sekundären und tertiären Amino-

---

[1]) Vgl. Br. Jirgensons, Biochem. Ztschrft. **268**, 414 (1934). Die Caseinpräparate hat Herr Prof. Br. Jirgensons mir liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm auch an dieser Stelle danke. — [2]) Br. Jirgensons, Biochem. Ztschrft. **246**, 219 (1932).

gruppen, z. B. Triäthanolamin, o-Phenanthrolin, Hordenin und verschiedene Alkaloide und ihre Spaltprodukte.

Eine scharfe Ausnahme zeigt nur Pyrrolidin, da es mit Bindon in Eisessig eine blaue Färbung gibt; es verhält sich also wie eine primäre aromatische oder wie eine sekundäre aromatisch-aliphatische Base. Dieselbe Ausnahme zeigt auch Prolin. Ob diese Ausnahme auch für andere Pyrrolidin-Derivate mit freier Iminogruppe charakteristisch ist, hat wegen Mangels an entsprechendem Material nicht aufgeklärt werden können.

Schiffsche Basen, wie Benzalmethylamin, geben auch hier positive Reaktion.

Quaternäre Basen, wie Tetramethylammoniumhydroxyd, Betain, Cholin u. a., geben mit Bindon in Eisessig keine positive Reaktion, ebenso Verbindungen mit mehreren Stickstoffatomen im Kern, z. B. 3,5-Dimethylpyrrazol, Azimidobenzol, Benzimidazol, α-γ-Dimethylpyrazin u. a.

Säureamide geben keine positive Reaktion mit Bindon, ebenso Harnstoff (in konzentrierten Lösungen intensive Rotfärbung), Biuret, Thioharnstoff, Urethan, Kreatin, Kreatinin, Guanin, Theobromin, Coffein und verschiedene Derivate der Puringruppe. Ebenso negativ ist die Reaktion mit Guanidin, Aminoguanidin und Dicyandiamid. Auch Benzamidin und Acetamidin geben keine positive Reaktion mit Bindon. Primäre Aminogruppen, die mit einem anderen Stickstoffatom verbunden sind, reagieren auch negativ, z. B. Phenylhydrazin, asym. Diphenyl- und Phenylmethylhydrazin, Semicarbazid u. a.

Die Ausführung der Reaktion ist dieselbe, wie sie in der ersten Mitteilung beschrieben ist.

Bei der Ausführung vorliegender Arbeit haben mich Frl. Rasma Bolis und Frau Boruchson-Thal bestens unterstützt. Ihnen sei bestens gedankt.

Zusammenfassung aller drei Mitteilungen.

Bindon in Eisessig ist ein charakteristisches und sehr allgemeines Reagens zum Nachweis primärer Aminogruppen. Aromatische primäre Aminogruppen geben mit Bindon eine blaue, bei sehr verdünnten Lösungen eine grüne Färbung, aliphatische primäre Aminogruppen dagegen eine violette Färbung. Alle untersuchten Mono-, Di- und Polyamine, die keine anderen funktionellen Gruppen enthalten, geben mit alleiniger Ausnahme des peri-Naphthylendiamins positive Reaktion. Bei aromatischen Polyaminen ist die Empfindlichkeit der Reaktion von der gegenseitigen Stellung der Aminogruppen abhängig: je näher sich diese Gruppen in demselben Kern befinden, desto weniger empfindlich ist die Reaktion.

Bei Verbindungen mit primären aromatischen Aminogruppen und anderen funktionellen Gruppen ist die Empfindlichkeit der Reaktion vom Charakter und von der Stellung der Substituenten sehr abhängig. Halogene, Carbonylgruppen, freie sowie ätherifizierte oder esterifizierte Hydroxylgruppen, freie oder esterifizierte Carboxylgruppen stören die Reaktion nicht; bei der ortho-Substitution ist die Empfindlichkeit der Reaktion nur etwas geringer und die blaue Färbung ist bisweilen mehr oder weniger violettstichig. Nitrogruppen in meta- und para-Stellung zur Aminogruppe setzen die Empfindlichkeit der Reaktion stark herab, bei ortho-Nitroaminoverbindungen versagt die Reaktion völlig. Freie Sulfogruppen verhindern die Reaktion, dagegen tritt sie bei Gegenwart von Natriumacetat auf, da Salze der Sulfosäuren nicht stören. Ebenso stört die Sulfamidgruppe nicht. Anhäufung mehrerer negativer Gruppen setzt die Empfindlichkeit herab oder verhindert die Reaktion völlig. Farbstoffe mit freien primären Aminogruppen geben keine positive Reaktion; diese tritt nur nach vorheriger Zerstörung des Chromophors auf.

In Verbindungen mit primären aliphatischen Aminogruppen beeinflussen andere funktionelle Gruppen die Reaktion viel weniger als bei aromatischen Verbindungen. Die Reaktion ist hier fast ausnahmslos positiv und viel gleichartiger, die Empfindlichkeit schwankt viel weniger. Die Reaktion ist positiv bei aliphatischen Aminoalkoholen, Aminoaldehyden und Aminoketonen, mit Verbindungen, die in der Kette substituierte oder nichtsubstituierte aromatische oder heterocyclische Radikale enthalten, mit Aminosäuren (mit einziger Ausnahme des Cystins), mit Peptiden, Pepton und Proteinen.

Acylierte primäre Aminogruppen geben keine Reaktion mit Bindon, ebenfalls nicht Säureamide.

Von Verbindungen mit sekundären Aminogruppen geben nur solche eine positive Reaktion, die ein substituiertes oder nichtsubstituiertes aromatisches und ein aliphatisches Radikal enthalten. Die Reaktion ist aber im allgemeinen weniger empfindlich. Verbindungen mit rein aliphatischen sekundären Aminogruppen geben eine positive Reaktion nur bei sehr großen Konzentrationen, dagegen geben rein aromatische sekundäre Amine keine positive Reaktion. Als Ausnahme sind nur Pyrrolidin und Prolin zu nennen, die mit Bindon in Eisessig eine blaue Färbung geben.

Verbindungen mit einer oder mehreren tertiären Aminogruppen geben mit Bindon in Eisessig keine charakteristischen Färbungen; eine Ausnahme macht allein das Hexamethylentetramin, das mit Bindon in Eisessig eine grüne Färbung gibt.

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

I. Allgemeine analytische Methoden, analytische Operationen, Apparate und Reagenzien.

Von

R. Fresenius. K. Fresenius.

Literatur. F. Bayer, Gasanalyse. Methoden der Arbeitspraxis unter Berücksichtigung der physiologischen Wirkungen der Gase. Zweite umgearbeitete Auflage. XII, 314 Seiten mit 122 Abbildungen und 30 Tabellen. Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart 1941. Preis geb. RM. 27.—.

Das als 39. Band der von W. Böttger herausgegebenen Sammlung „Die chemische Analyse" vor etwa 3 Jahren erschienene Buch[1]) liegt heute in zweiter Auflage vor. Während nun die erste Auflage die klassische Gasanalyse, wie sie Clemens Winkler, W. Hempel und K. Bunte entwickelt haben, nicht berücksichtigt hat, umfaßt die neue zweite Auflage die gesamte Gasanalyse, behandelt also auch die klassischen Methoden in der ihnen gebührenden Ausführlichkeit. Das Buch hat dadurch sehr gewonnen, wenn auch der Umfang von 175 auf 314 Seiten zugenommen hat und der Preis dementsprechend gestiegen ist. Das Buch kann jedem Chemiker, der gasanalytisch zu arbeiten hat, warm empfohlen werden.

H. Harff, Die Entwicklung der deutschen chemischen Fachzeitschrift. 139 Seiten mit 20 Abbildungen. Verlag Chemie, Berlin 1941. Preis geb. RM. 4.80.

Dieser „Beitrag zur Wesensbestimmung der wissenschaftlichen Fachzeitschrift" gibt eine interessante Darstellung von dem Entstehen der chemischen Fachzeitschrift und von ihrer Entwicklung bis zum Beginn des 19. Jahrhunderts.

H. Sirk, Mathematik für Naturwissenschaftler und Chemiker. Eine Einführung in die Anwendungen der höheren Mathematik. XII, 268 Seiten mit 126 Abbildungen und 1 Ausschlagtafel. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden 1941. Preis geb. RM. 12.—.

H. Sirk will in seinem Buch nicht Mathematik als solche lehren, sondern Naturwissenschaftlern, namentlich Chemikern, Verständnis für die Mathematik dadurch vermitteln, daß er sie in die Anwendung der Analysis auf ihr Fach einführt. Er tut dies, indem er an Beispielen aus der Chemie und Physik die mathematischen Begriffe erarbeiten läßt. Im ersten Teil, der die Funktionen einer Veränderlichen behandelt, werden vor allem die Differential- und die Integralrechnung vorgenommen. Der zweite Teil ist den Funktionen mehrerer Veränderlichen vorbehalten, während der dritte Teil den Differentialgleichungen gewidmet ist. In einem Anhang werden Wiederholungen derjenigen Kenntnisse, die die Schule in Algebra und Geometrie vermittelt hat, mitgeteilt, um jedem Leser ein leichtes Einarbeiten zu ermöglichen. Die Darstellung zeigt großes pädagogisches Geschick und ist klar und verständlich für jeden

[1]) Vgl. diese Ztschrft. **113**, 280 (1938).

Leser, der die erforderliche mathematische Vorbildung besitzt. Da der Chemiker mathematische Kenntnisse nicht entbehren kann, wird das Buch sicher vielen Fachgenossen willkommen sein. R. Fresenius.

Einen Nachweis für Magnesium mittels p-Nitrobenzolazoresorcinols beschreiben J. P. Mehlig und K. R. Johnson[1]). Das Reagens, das nach den ersten Bearbeitern K. Suitsu und K. Okuma[2]) geeignet sein soll, noch 0,002 *mg* Magnesium nachzuweisen, wurde in seinem Verhalten gegenüber anderen Elementen geprüft. Die Untersuchung ergab, daß bei Prüfung auf Magnesium man vorher die Metalle der ersten drei Gruppen nach den üblichen Regeln der qualitativen Analyse zu entfernen hat, daß aber Aluminium-, Barium-, Calcium- und Strontium-Ionen, die bei der Bestimmung des Magnesiums nach der Phosphatmethode so viel Schwierigkeiten machen, bei diesem Reagens nicht stören. K. Fresenius.

Über qualitative spektrographische Analyse im Lichtbogen mittels Graphitelektroden schreiben W. C. Pierce, O. R. Torres und W. W. Marshall[3]). Ausrüstung: Ein Quarz-Spektrograph. Die Elektrodenkohlen, die aus käuflichen Achesongraphitstäben hergestellt sind, werden besonders durch Behandlung mit einem Gemisch von gleichen Teilen Salpeter- und Salzsäure und dann mit immer neuen Mengen Salzsäure allein so lange behandelt, bis ein Versuchsspektrum genügende Reinheit anzeigt; dann werden die Elektroden gespült und in einer Porzellanschale auf einer heißen Platte getrocknet. Die so behandelten Elektroden enthalten noch Bor und Silicium in merklichen Mengen und Spuren von Kupfer, Calcium, Magnesium und Natrium. Ein vorläufiges Arbeiten mit dem Lichtbogen während 1 Min. bei 10 Amp. entfernt nahezu alles Kupfer und Natrium, drängt die Mengen von Magnesium und Calcium größtenteils zurück und ebenso in großem Umfang den Gehalt an Bor und Silicium. Freilich ist diese Methode der Behandlung nicht ratsam, wenn man die Elektrode zur Analyse von Lösungen benutzen will, da sie den Graphit in einen sehr porösen Zustand versetzt. Die so behandelten Elektroden entsprechen, abgesehen vom Bor- und Siliciumgehalt, den höchsten Forderungen an Reinheit. Die Behandlung ist auch auf im Handel befindliche „gereinigte" Elektroden auszudehnen, weil durch das Bohren wieder Verunreinigungen eindringen können.

Für Lösungen benutzt man Kohlen von 6,3 *mm* ∅ und für feste Stoffe solche von 4,8 *mm* ∅. Vor der Reinigung bringt man in den unteren Kohlen durch Bohren Kraterhöhlungen von 5—12 *mm* Tiefe an. Die Kraterwände macht man für feste Stoffe so dünn wie möglich, damit die Menge der Kohle, die während des Betriebes verdampft, im Verhältnis zum Muster möglichst klein bleibt. Eine Wandstärke des Kraters von 0,8 *mm* genügt für Lösungen, ohne daß zu befürchten ist, daß die Lösung durch Undichtheiten der Wand hindurch tritt. Der benutzte Bohrer soll so in seiner Bohrfassung sitzen, daß sich die Tiefe des Bohrloches automatisch reguliert und der Rand des Kraters auf einfache Weise flach bleibt.

[1]) Ind. Eng. Chem. Analytical Edition **12**, 30 (1940). — [2]) Journ. Soc. Chem. Ind. Japan **29**, 132 (1926). — [3]) Ind. Eng. Chem. Analytical Edition **12**, 41 (1940).

Austausch von Kathode und Anode. Das zu untersuchende Muster wurde einmal in der Kathode, ein zweites Mal in der Anode, dann mit anderer Linsenanordnung nach F. Twyman und F. Simeon[1]) wieder in der Kathode der Einwirkung des Lichtbogens ausgesetzt, wobei Elektroden von 3 *mm* ∅ nach der von R. Mannkopff und C. Peters[2]) angegebenen Kathodenschichtmethode zur Verwendung kamen. Dabei wurden folgende Ergebnisse gewonnen: a) Ist das Muster sehr klein, so wie bei den Blindversuchen mit den Elektrodenkohlen, dann ist bei der Kathodenschichtmethode der Gewinn an Empfindlichkeit deutlich. In der wirklichen Analyse von Mustern konnten alle Bestandteile, die durch die Kathodenschichtanordnung gefunden worden waren, auch im Anodenlichtbogen mit der Linsenanordnung nach F. Twyman und F. Simeon gefunden werden. b) Die Lichtbogenbedingungen sind einheitlicher und wiederholbar bei Benutzung des Anodenlichtbogens; letzterer brennt stetiger und trifft direkt das Schmelzkügelchen des Musters, wenn letzteres aus leitendem Material besteht. Der Kathodenlichtbogen hat die Neigung, um den Kraterrand zu wandern und mehr Kohle auf ein gegebenes Mustergewicht zu verdampfen als der Anodenlichtbogen. In vielen Fällen verzehrte der Kathodenlichtbogen die Elektrode so, daß ein Anteil des Musters aus dem Krater rollte und verloren war. Das Wandern des Lichtbogens ist teilweise unangenehm, wenn die Kathodenmethode mit größeren Elektroden ausgeführt wird, so wie man sie zur Analyse von Lösungen benutzt. c) Bei Benutzung der Kathodenschichtmethode empfiehlt sich die Verwendung einer einfachen Linsenschlitzbeleuchtung, weil die erhaltenen Linien keilförmige Gestalt haben und schneller von den Banden unterschieden werden können, als dies bei den schwachen Linien von gleichförmiger Helligkeit von oben bis unten der Fall ist; es ist etwas schwieriger, einheitliche Beleuchtungsbedingungen mit einer einfachen Linse zu erhalten als mit der Anordnung nach Twyman-Simeon. d) Die Kathodenschichtmethode ist zur Auffindung von Verunreinigungen in den Elektroden empfehlenswert; für alle anderen von den Verfassern geprüften Fälle, in denen die Menge des Musters nicht beschränkt ist, wird man die Anodenerregung vorziehen wegen ihrer Bequemlichkeit, zumal ihre Empfindlichkeit derjenigen der Kathodenerregung gleich ist. Zur Technik der Lichtbogeneinwirkung auf das Muster: Um eine einheitliche, ununterbrochene Verdampfung des Musters mit möglichst geringer Kohleverdampfung zu erzielen, sind folgende Vorschriften zu befolgen. a) Feste Metall-Legierungen oder Metalle (Oxyde oder Salze, die zu Metallen reduziert werden): Man bringt 5—20 *mg* des Musters in den Krater einer 4,8 *mm*-Elektrode; bei leicht flüchtigen Metallen wie Quecksilber oder Cadmium sucht man den Krater 10—12 *mm* tief zu machen, anderenfalls genügt ein seichterer Krater von 5—8 *mm* Tiefe. Man macht eine Photoaufnahme von der unteren Elektrode, dem positiven Pol, nimmt die Kathode aus dem Halter und schneidet den Kraterrand weg, um das Musterkörnchen bloßzulegen. Man wechselt die Platte aus, macht eine

[1]) Trans. Opt. Soc. (London) **31**, 179 (1929). — [2]) Ztschrft. f. Physik **70**, 444 (1931).

neue Aufnahme und fährt so fort, bis das Muster völlig verbraucht ist. Mit einer Schlitzweite von 0,01—0,02 *mm* wird die Expositionsdauer zwischen 60 und 150 Sek. im ultravioletten Bereich und 20—50 Sek. im sichtbaren Bereich betragen, in Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Platte. Dauert die völlige Verdampfung des Musters länger, so benutzt man einen Blendenausschnitt vor dem Schlitz, um eine richtige Aufnahme der tatsächlichen Dauer zu erhalten. b) Nichtleitende feste Stoffe: Zustand des Musters, der Elektroden und Kratertiefe sind die gleichen. Die erste Aufnahme wird gemacht, wenn zu erkennen ist, daß die Substanz nicht mehr verzehrt wird. Man schneidet dann die Elektrode ab, um das untere Kraterende bloßzulegen, und macht eine zweite Aufnahme, wenn alle Substanz verbraucht ist. Gewisse Stoffe beginnen aus dem Krater zu sprudeln, wenn der Lichtbogen aufzutreffen anfängt, was man durch Auflegen von 5—10 *mg* wasserfreier Soda in den Krater auf das Muster verringern kann, wobei beim Auftreffen des Lichtbogens sich eine Schmelze bildet. — Lösungen: Man benutzt eine 6,3 *mm*-Elektrode, damit der Krater etwa 0,05—0,1 *ccm* Lösung aufnehmen kann. Man behandelt die Elektrode mit einer verdünnten Lösung von Paraffinöl in Ligroin oder Ceresin, um die Kohle für wäßrige Lösungen undurchlässig zu machen, läßt dann eine gemessene Menge des Musters langsam aus einer Capillarpipette in den Krater einfließen, wobei man darauf achten muß, daß keine Luftblasen mit eintreten, und dampft dann in einem Ofen oder auf einer heißen Platte zur Trockne ein. Der Trockenrückstand wird dann wie oben mit dem Lichtbogen behandelt. Die Lichtbogeneinwirkung wird stetiger gehalten, wenn die obere Elektrode auch Kraterform hat, statt daß sie zugespitzt ist. Bei der Analyse hochviscoser Lösungen kann man vorteilhaft Elektroden mit flachen Enden verwenden, und zwar bringt man dann je 1 Tropfen der Lösung auf die untere und die obere Elektrode, verdampft zur Trockne und verfährt wie oben. Ist das Muster verbraucht, ehe man eine genügende Aufnahme erhalten hat, so tränkt man die Elektroden aufs neue und macht einige Aufnahmen, ohne die Plattenstellung abzuändern.

Analyse der Spektra: Jede Aufnahme wird von einem Eisenlichtbogen-Orientierungsspektrum begleitet, das sich über das Spektrum des Musters legt und es schwach überdeckt. Man benutzt ein Hartmann-Diaphragma, um die beiden Spektra in passendem Verhältnis aufzuprägen, ohne den Plattenhalter zu bewegen. Die Öffnung für das Orientierungsspektrum ist 1 *mm* und diejenige für das Musterspektrum 1,5 *mm* hoch. Die Methode der Feststellung ist früher[1]) beschrieben worden. Die Orientierungs- und Musterspektra sind auf 10fache Vergrößerung auf Pläne projiziert, die Eisenorientierungslinien und Analysenlinien der meisten gewöhnlichen Elemente enthalten. Sucht man weitere Elemente, wie etwa die seltenen Erden, die nicht auf den Plänen zu finden sind, so stellt man eine Liste der wichtigen Analysenlinien dieser Elemente her und verzeichnet die Lagen dieser Linien auf Planrandstreifen, die nach Bedarf

[1]) W. C. Pierce, O. R. Torres und W. W. Marshall, Ind. Eng. Chem. Analytical Edition **11**, 191 (1939).

abgeschnitten werden können; Orientierungspunkte auf den Haupt- und den Zusatzplänen sichern die wiederholbare Einstellung. Die Untersuchung der Spektra durch Projektion geht weit rascher als die direkte Prüfung der Platte vor sich, strengt das Auge weniger an und steht in bezug auf Empfindlichkeit auf gleicher Höhe.

Empfindlichkeit: Eine allgemeine Feststellung kann bei so vielen Einflüssen nicht erfolgen. In Betracht kommt die Intensität des Hintergrundes, gegen die sich mit stärkerer Strahlung die Linien der nachzuweisenden Elemente abheben müssen. Benutzt man Graphitelektroden, so erhält man einen Hintergrund von C-, N- oder anderen Banden, die besonders im Bereich von 3400—5000 Å stark sind. Glücklicherweise ist der Hintergrund der Elektrode viel heller im Bereich von 2500—3400 Å, wo die besten Analysenlinien für so viele Elemente vorkommen. Elemente, deren empfindlichste Linien im Bereich des starken Hintergrundes liegen, können weder in niedriger Konzentration gefunden werden noch in Elementen, die Linien gleicher Intensität in einem Bereich haben, der verhältnismäßig frei von Hintergrund ist. In solchen Fällen ersetzt man die Graphitelektrode durch eine Metallelektrode. Oft kann man das Muster selbst in Form einer Metallstange anwenden. Auch das Muster selbst liefert außer den wichtigen Linien noch Hintergrund entweder als Banden oder als kontinuierliche Strahlung von weißglühenden Teilchen; besonders sendet Silicium solche Bandenspektren aus.

Störende Linien: Die positive Feststellung eines Elements erfordert die Anwesenheit einer genügenden Anzahl von Linien, um die Wahrscheinlichkeit vom Zusammenfallen mit anderen Linien auf ein Mindestmaß zurückzuführen. Enthält das Spektrum eines Musters wenig Linien, so kann die Feststellung einer Verunreinigung aus einer einzigen Linie oder charakteristischen Liniengruppe hergeleitet werden; wenn aber das Musterspektrum verwickelt zusammengesetzt ist, so läßt eine einzige Linie einer Verunreinigung eine Erkennung nicht zu, es sei denn, man kann nachweisen, daß diese Linie nicht eine schwache Linie irgend eines anderen Bestandteiles ist, was oft schwierig festzustellen ist. Deshalb hängt die Empfindlichkeit für ein bestimmtes Element von der Natur der zu untersuchenden Mischung ab; z. B. kann Blei in manchen biologischen Mustern durch die einzelne starke Linie bei 2833 Å nachgewiesen werden, aber die Erkennung des Bleis in einem Metallmuster, das große Mengen Chrom, Mangan usw. enthält, erfordert schon die Anwesenheit einer beträchtlichen Bleimenge, um einige Linien zu liefern. Die Bedingungen für die Verdampfung können merklich die Empfindlichkeit des Nachweises beeinflussen. Flüchtige Elemente wie Quecksilber und Cadmium können dem Nachweis entgehen, wenn man das Muster in einem seichten Krater verdampft; man erreicht aber eine starke Intensität, wenn man das Muster in einen entsprechend tiefen Krater gebracht hat. — Zeitweise kann die Empfindlichkeit durch die Anwesenheit eines fremden Elementes gesteigert werden, das die Temperatur steigert, bei der das Spektrum erregt wird. K. Fresenius.

II. Chemische Analyse anorganischer Stoffe.

Von

R. Fresenius. Elisabeth Egenolf.

Literatur. F. Hecht und J. Donau, Anorganische Mikrogewichtsanalyse. XVII, 350 Seiten mit 102 Abbildungen. Verlag von Julius Springer, Wien 1940. Preis geb. RM. 28.50.

Das vorliegende Buch ist als erster Band einer von F. Hecht herausgegebenen Sammlung „Reine und angewandte Mikrochemie in Einzeldarstellungen" erschienen. Es behandelt ausschließlich die anorganische Mikrogewichtsanalyse, diese aber ausgezeichnet. Im ersten Teil des Buches werden Apparate und Arbeitstechnik beschrieben (Waagen und Wägetechnik, Wägungsformen, Vorbereitung zur Analyse, Reagenzien, Geräte und Teiloperationen der Analyse), im zweiten die Analysenmethoden, und zwar zunächst die Einzelbestimmungen, dann Trennungen von Kationen, Spezialmethoden und die Analyse zusammengesetzter Substanzen. Zum Schluß wird als Beispiel der mikrogravimetrischen Bestimmung eines Nebenbestandteiles in einem Mineral die Bestimmung des Bleis in Allaniten behandelt. Die beiden Verfasser, die als namhafte Vertreter ihres Faches an der Entwicklung der Mikro-Gewichtsanalyse führend tätig sind, haben in dem Werk ihre reichen Erfahrungen niedergelegt und viele Einzeltatsachen hineingearbeitet, die sie gefunden haben. Jedem Fachgenossen, der sich mit mikroanalytischen Arbeiten beschäftigt, wird das Buch höchst willkommen sein, da er in ihm reiche Belehrung und Anregung findet.

A. Smith-J. D'Ans, Einführung in die allgemeine und anorganische Chemie auf elementarer Grundlage. 8. Auflage, bearbeitet von J. D'Ans. IX, 834 Seiten mit 135 Abbildungen. Verlag von G. Braun, Karlsruhe 1940. Preis geb. RM. 14.—.

Die anorganische Chemie von Smith-D'Ans, auf die an dieser Stelle[1]) beim Erscheinen der 6. Auflage hingewiesen worden ist, liegt heute nach etwa einem Jahrzehnt in 8. Auflage vor. An dem Aufbau des Buches, der sich in vielen Jahren bewährt hat, ist, abgesehen von einer Teilung und Umstellung des Kapitels Molekülbau, fast nichts geändert worden. Dagegen sind die einzelnen Kapitel sorgfältig durchgesehen und ergänzt worden. So finden sich in der neuen Auflage Angaben über die Atomarten der Elemente, über das Deuterium, über Geochemie, über die Bedeutung des Kohlenstoffs in der neueren chemischen Großindustrie, über die Ultrarotspektren und den Raman-Effekt und vieles andere mehr. Die neue Auflage entspricht dem heutigen Stand der Wissenschaft, sie bietet viel mehr als nur eine Einführung in die allgemeine und anorganische Chemie. Sehr zu begrüßen ist das geschichtliche Schlußkapitel „Etwas aus der Entwicklung der Chemie", das man gern als Einleitung an den Anfang gestellt sähe. Das Buch, das an vielen Hochschulen in Gebrauch ist, wird sich sicher auch in der neuen Auflage bestens bewähren.

G. Jander und F. Jahr, Maßanalyse. Theorie und Praxis der klassischen und der elektrochemischen Titrierverfahren. Zweite, ver-

[1]) Vgl. diese Ztschrft. **83**, 205 (1931).

besserte Auflage. Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin 1940. Band I: 140 Seiten mit 18 Abbildungen, Band II: 139 Seiten mit 24 Abbildungen. Sammlung Göschen Band 221 und Band 1002. Preis je Band geb. RM. 1.62.

Die Maßanalyse von Jander und Jahr, auf die bei ihrem Erscheinen an dieser Stelle[1]) hingewiesen worden ist, liegt in zweiter, verbesserter Auflage vor. An der bewährten Anlage des Buches ist nichts geändert. Im ersten Band werden zunächst die Grundlagen der Maßanalyse behandelt und von den klassischen Methoden der Maßanalyse Oxydations- und Reduktionsanalysen sowie die Neutralisationsanalysen. Der zweite Band bringt zunächst die den klassischen Methoden der Maßanalyse zuzurechnenden Neutralisationsanalysen, soweit sie noch nicht im ersten Band besprochen sind, und die Fällungsanalysen. Dann werden in einem dritten Teil im zweiten Band die elektrochemischen Methoden der Maßanalyse allgemein besprochen und in besonderen Abschnitten die Konduktometrie und die Potentiometrie abgehandelt, wobei daran erinnert werden darf, daß G. Jander und seine Mitarbeiter an dem Ausbau der Konduktometrie maßgebenden Anteil gehabt haben. Den Abschluß bildet ein lesenswerter kurzer Überblick über die Geschichte der Maßanalyse. Die vorliegenden beiden Göschenbände können den Chemie Studierenden zum Studium und zum Gebrauch im Laboratorium sehr empfohlen werden, ebenso allen denen, die sich einen Überblick über die Maßanalyse verschaffen wollen. R. Fresenius.

Einen Beitrag zur Bestimmung von nichtmetallischen Einschlüssen im Stahl durch elektrolytische Rückstandsisolierung haben P. Klinger und W. Koch[2]) geliefert.

Zunächst werden die grundlegenden Arbeiten auf dem Gebiet der elektrolytischen Isolierung der nichtmetallischen Einschlüsse (Rückstände) besprochen, unter denen das Verfahren von R. Treje und C. Benedicks[3]) das wichtigste ist. Bei den anderen Verfahren wird an der Anode bzw. an der Kathode Sauerstoff bzw. Wasserstoff frei. Dadurch schwankt der p_H-Wert der Lösung beträchtlich und die Rückstände werden z. T. zersetzt. Treje und Benedicks vermeiden die Gasentwicklung an den Elektroden, indem sie zwei verschiedene Elektrolyte anwenden. Das Anion des anodischen Elektrolyten muß ein unterhalb von dem des Sauerstoffs gelegenes Abscheidungspotential haben, das Kation des kathodischen Elektrolyten muß ein Abscheidungspotential haben, das unter dem des Wasserstoffs liegt. Als Anodenlösung wurde eine Kaliumbromidlösung, als Kathodenlösung eine Kupferbromidlösung (bzw. Kupfersulfatlösung) verwendet.

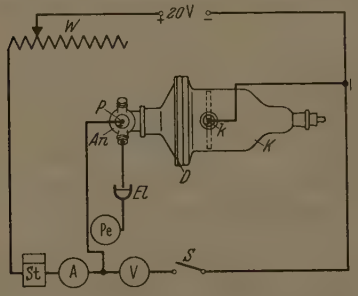
Klinger und Koch legten ihren Untersuchungen das Verfahren von Treje und Benedicks zugrunde. Sie erkannten daran jedoch noch folgende Nachteile. An der Stelle, wo die Stahlprobe mit der Flüssigkeits-

---

[1]) Vgl. diese Ztschrft. **101**, 118 (1935). — [2]) Techn. Mitt. Krupp, Forschungsber. 1938, S. 49. — [3]) Jernkont. Ann. **116**, 165 (1932); vgl. diese Ztschrft. **91**, 204 (1933).

oberfläche in Berührung kam, bildete sich stets eine Oxydschicht, die nachher das Ergebnis der Eisenoxydulbestimmung störte. Ferner wurde der Anodenraum durch einen Kollodiumbeutel abgegrenzt und die Anodenflüssigkeit mit Natriumcitrat versetzt, um das Ausfallen von Eisenhydroxyd zu verhindern. Dies hatte jedoch zur Folge, daß gegen Ende der Isolierung die Eisenkonzentration in der Anodenlösung und damit das Potential an der Anode immer mehr anstieg. Dadurch entstand mitunter eine Gasentwicklung, die dann zu Oxydationen führte. Außerdem fiel der p_H-Wert der Lösung von 7 auf unter 5, wodurch Manganoxydul in Lösung ging.

Apparatur. Um die Oxydation der Probe durch die Flüssigkeitsoberfläche zu vermeiden, arbeiten die Verfasser in einer geschlossenen Apparatur, deren Anodenraum eine Stickstoffatmosphäre aufweist. Um ferner die Sauerstoffentwicklung an der Anode und die Änderung des Anodenpotentials zu vermeiden, wird die Isolierung im strömenden, stets frisch zufließenden Elektrolyten ausgeführt.



Schaltskizze der Apparatur zur elektrolytischen Rückstandsisolierung.
An = Anodenraum;
k = Kathode;
W = Widerstand;
A = Ampèremeter;
K = Kathodenraum;
D = Diaphragma;
St = Stiazähler (Ampèrestundenzähler);
V = Voltmeter;
P = Probe;
El = Kalomelelektrode;
Pe = Pehavi-Meßgerät;
S = Schalter.

Abb. 25.

Die Apparatur (Abb. 25) besteht aus dem Anodenraum An und dem Kathodenraum K, die durch Planschliffe miteinander verbunden sind und zwischen denen das Diaphragma D liegt. Der Anodenraum ist nicht mehr durch einen Kollodiumbeutel abgegrenzt. In dem Anodenraum An, durch den ein gereinigter Stickstoffstrom geleitet wird, hängt die Probe P. In dem Kathodenraum K befindet sich die Kathode k, die aus einem Kupferdrahtnetz besteht.

Gang der Isolierung. Der Anodenraum sowie ein Niveaugefäß werden mit dem Elektrolyten gefüllt, der folgende Zusammensetzung hat: 1,5 *kg* Natriumcitrat + 120 *g* Kaliumbromid + 60 *g* Kaliumjodid, in Wasser zu 10 *l* gelöst. Der Kathodenraum wird mit 10%iger Kupferbromidlösung gefüllt.

Aus dem Probegut werden etwa 100 *g* schwere Stücke von 13 *mm* Dicke und 60 *mm* Länge herausgeschnitten und in die Apparatur gehängt. Darauf wird zur Vertreibung der Luft 5 Min. lang ein gereinigter Stickstoffstrom durchgeleitet. Dann wird der Elektrolysenstrom eingeschaltet und auf etwa 1 Amp. reguliert. Das Anodenpotential, das nach 10 Min.

geprüft wird, soll unterhalb 500 Millivolt liegen, da nur dann mit Sicherheit keine anodische Oxydation stattfindet. Nach 24 Stdn. ist ein genügender Teil der Probe zersetzt. Der Rückstand wird von der Probe in eine Platinschale gespült, dann auf ein Cellafilter gebracht und gut ausgewaschen.

Der so behandelte Rückstand wird nun auf Oxydule und Sulfide untersucht. Zunächst werden mit Hilfe einer etwas Salzsäure enthaltenden konz. Kupferbromidlösung in einer besonderen Apparatur die Carbide und Sulfide entfernt und die oxydischen Rückstände rein erhalten. Zur Bestimmung der Bindung des Schwefels hingegen müssen Lösungsmittel gefunden werden, die außer den Sulfiden alle Bestandteile des Rückstandes lösen. Mit Glykokoll-Lösung löst man zunächst das Manganoxydul heraus, zersetzt dann die Sulfide des Eisens und Mangans mittels verdünnter Salzsäure und fängt den entstehenden Schwefelwasserstoff in Cadmiumacetatlösung auf. Die Salzsäurelösung enthält den an Schwefel gebundenen Anteil des Mangans, aus dem sich der als Mangansulfid vorhandene Schwefel berechnen läßt. Der restliche Schwefel liegt als Eisensulfid vor und kann ebenfalls berechnet werden.

In der Originalarbeit findet man noch ausführliche Einzelheiten hinsichtlich der Apparaturen, der Reagenzien und der Arbeitsweise sowie ferner noch weitere Abbildungen. Elisabeth Egenolf.

III. Chemische Analyse organischer Stoffe.

Von

R. Fresenius. Elisabeth Egenolf.

Literatur. W. Hückel, Theoretische Grundlagen der organischen Chemie. 3. Aufl. Zwei Bände. Akademische Verlagsgesellschaft Becker & Erler Kom.-Ges., Leipzig 1940 (Bd. I) und 1941 (Bd. II). Band I: XII, 616 Seiten mit 26 Abbildungen. Preis geb. RM. 21.80. — Band II: XV, 614 Seiten mit 56 Abbildungen. Preis geb. RM. 21.80.

Das Erscheinen der ersten Auflage dieses Werkes ist an dieser Stelle[1]) lebhaft begrüßt und eingehend gewürdigt worden. Während die in den Jahren 1934 und 1935 erschienene zweite Auflage sich von der ersten kaum unterscheidet, liegt jetzt eine völlige Neubearbeitung vor. Dies geht schon rein äußerlich daraus hervor, daß der Umfang des Werkes von 762 auf 1230 Seiten angewachsen ist. Das Studium der Darstellung der theoretischen Grundlagen der organischen Chemie ist besonders reizvoll, weil sie, wie Hückel im Vorwort des ersten Bandes schreibt, „allen denen, die mit den älteren Vorstellungen vertraut sind, zeigt, wie sich folgerichtig aus diesen heraus die neueren Theorien entwickeln lassen. Dann soll diese Darstellung auch gleichzeitig allen, die im eifrigen Drang nach vorwärts die neuen Vorstellungen weiter zu entwickeln bestrebt sind, klar machen, wie fest sie doch letzten Endes in der wissenschaftlichen Tradition ver-

[1]) Vgl. diese Ztschrft. **85**, 465 (1931).

wurzelt sind und wieviel sie ihr verdanken; auf diese Weise wird verhütet, daß sie die Verbindung verlieren."

Der erste Band behandelt im ersten Buch das System der organischen Chemie (Theoretische Grundlagen des Systems — Stereochemie — Organische Molekülverbindungen — Verbindungen mit abnormer Wertigkeit der Elemente), im zweiten Buch die Grenzen der in der organisch-chemischen Systematik gebräuchlichen Ausdrucksmittel (Tautomerie — Innermolekulare Umlagerungen — Sterische Umlagerungen und Waldensche Umkehrung — Ungesättigte Verbindungen — Aromatische Verbindungen — Verlauf chemischer Reaktionen).

Der zweite Band bringt das dritte Buch: Konstitution und physikalische Eigenschaften (Theoretische Betrachtungsweisen physikalischer Eigenschaften. Thermische Größen — Die elektrischen Eigenschaften der Moleküle — Das Verhalten der Stoffe im elektromagnetischen Wechselfeld — Zusammenhänge zwischen Kohäsion und Konstitution — Geordnete Zustände organischer Stoffe — Kolloidchemische Probleme in der organischen Chemie — Die chemische Bindung) und das letzte, vierte Buch: Konstitution und Reaktionsgeschwindigkeit (Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit — Reaktionsgeschwindigkeitskonstante und Konstitution — Reaktionsgeschwindigkeit und Gleichgewicht).

Diese Angaben lassen erkennen, welche Fülle von Material bearbeitet worden ist und nach welchen Gesichtspunkten seine Anordnung erfolgt ist. Es liegt ein Standardwerk vor, das von überragender Warte aus die geistige Entwicklung der Probleme im In- und Ausland behandelt. Jeder Chemiker, der das Werk zur Hand nimmt, wird darin reiche Belehrung und Anregung finden. Nicht unerwähnt darf bleiben, daß der Preis gegenüber der ersten Auflage nicht gestiegen ist, obwohl der Umfang des Werkes so beträchtlich zugenommen hat. R. Fresenius.

2. Qualitative und quantitative Analyse.

Zur gasvolumetrischen Halbmikrobestimmung von Kohlenstoff in aliphatischen und cyclischen Verbindungen haben E. Berl und W. Koerber[1]) folgendes Verfahren angegeben. Die Probe (8—25 *mg*) wird mit 1 Tropfen Quecksilber und, wenn eine Säure vorliegt, mit einem Kügelchen CO_2-freiem Natriumhydroxyd und einigen Tropfen Wasser in den Oxydationskolben gebracht (Abb. 26, S. 141). Alle Schliffe und Hähne werden mit (viscoser) 100%iger Phosphorsäure eingefettet. Bei geschlossenem Hahn A und geöffneten Hähnen B und C wird der Apparat bei C evakuiert. Dann wird C geschlossen und die Wasserstrahlpumpe abgeschaltet. Nunmehr gießt man 5 *ccm* konz. Chromsäure in den Trichter bei A. Wenn man A vorsichtig öffnet, so fließt praktisch alle Flüssigkeit in den Kolben, ohne daß Luft hineingelangt. Auf die gleiche Weise werden 5 *ccm* konz. Phosphorsäure in den Kolben gebracht. Dann erhitzt man den Kolben mäßig, so daß der Inhalt 8—10 Min. im Vakuum kocht. Man muß dafür sorgen, daß das Vakuum während der ganzen Operation bestehen bleibt. Vor dem Erhitzen wird die Apparatur mit einem Niveaugefäß verbunden,

[1]) Ind. Eng. Chem. Analytical Edition 12, 245 (1940).

das mit einer mit Salzsäure gesättigten und mit Methylorange versetzten Kochsalzlösung gefüllt ist. Der Hahn C wird vorsichtig geöffnet, so daß unter dem Einfluß des Vakuums eine sehr geringe Menge der Salzlösung in die Bürette eindringt. Hat sich jedoch ein Überdruck in der Apparatur entwickelt, so steigt die Salzlösung zurück. Im letzteren Fall ist der Versuch abzubrechen und von neuem zu beginnen.

Sobald die Probe vollständig verbrannt ist, wird B geschlossen. Dann gibt man heiße konz. Natriumsulfatlösung in den Trichter bei A, öffnet A, ohne Luft einzulassen, und füllt den Kolben mit der Lösung. Dann öffnet man B, wobei sich die Capillare zwischen dem Oxydationskolben und der Bürette mit Natriumsulfatlösung füllt. Hierauf schließt man B und entfernt die Bürette vom Oxydationskolben. Nach etwa 25 Min. hat das Gas in der Bürette Raumtemperatur angenommen (in der Bürette ist ein Thermometer angebracht, dessen Quecksilberkugel sich in der Mitte der Gassäule befindet). Nun wird C geöffnet und aus dem Niveaugefäß Kochsalzlösung einfließen gelassen, bis die Flüssigkeitsspiegel in der Bürette und in dem Niveaugefäß gleich hoch stehen. Das Gasvolumen (CO_2+Fremdgas, hauptsächlich Luft) wird nunmehr abgelesen. Dann senkt man das Niveaugefäß etwas, schließt C und läßt durch den Trichter bei B eine 50%ige Kaliumhydroxydlösung einfließen. B wird geschlossen und die Bürette in waagerechter Lage geschüttelt. Wenn das Kohlendioxyd absorbiert ist, bringt man etwas konz. Kochsalzlösung durch den Trichter bei B hinzu, und dann wird das Volumen des nicht absorbierten Gases abgelesen.

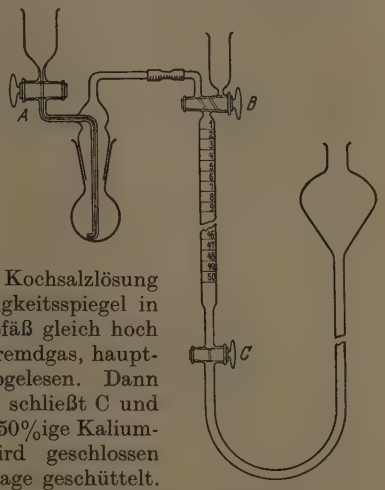


Abb. 26.

Der CO_2-Gehalt kann mittels eines Nomogrammes sehr rasch berechnet werden.

Mit dieser Methode, die in wenigen Minuten durchführbar ist, können aromatische Kohlenwasserstoffe und aromatische Amine mit gutem Erfolg analysiert werden. Elisabeth Egenolf.

IV. Spezielle analytische Methoden.

1. Auf Lebensmittel und Gesundheitspflege bezügliche.

Von

R. Fresenius. A. Grohmann-Mainz.

Literatur. W. Ziegelmayer, Unsere Lebensmittel und ihre Veränderungen. Mit einer Darstellung der Lehre von der Kochwissenschaft. Zweite verbesserte und vermehrte Auflage. XVI,

401 Seiten mit 87 Abbildungen und 74 Tabellen. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1940. Preis geb. RM. 13.50.

Das dem Andenken A. Juckenacks gewidmete Buch, auf dessen erstes Erscheinen an dieser Stelle[1]) hingewiesen worden ist, liegt jetzt in zweiter erweiterter Auflage vor. Es ist heute ein kriegswichtiges Buch, denn es hilft im Interesse der Volksernährung unersetzliche Werte von Lebensmitteln zu erhalten und für ihre zweckmäßigste Zubereitung zu sorgen. Es sei deshalb auf das Erscheinen der neuen Auflage nachdrücklich hingewiesen.

W. Ziegelmayer und E. Merres, Die Nahrungs- und Genußmittel, ihre Pflege und Lagerung. VIII, 220 Seiten. Verlag von E. S. Mittler & Sohn, Berlin 1941. Preis geb. RM. 2.—.

Zunächst unter dem Titel „Die Lebensmittel, ihre Pflege und Lagerung (Warenkunde)" als amtliches Lehrbuch der Wehrmacht erschienen, bringt die vorliegende Schrift die Anforderungen, die an die Zusammensetzung und Güte der für die Wehrmacht beschafften und in ihrem Bereich ausgegebenen Lebensmittel gestellt werden; sie enthält ferner Richtlinien und Anhaltspunkte für die Prüfung, Beurteilung, Pflege und Lagerung der Lebensmittel und berücksichtigt die reichsrechtlichen Vorschriften und die Normativbestimmungen des Reichsnährstandes.

Nach allgemeinen Ausführungen werden in dem Abschnitt Warenkunde die einzelnen Lebensmittel besprochen. Daran schließen sich Angaben über Beschaffenheit und Pflege der Koch- und Aufbewahrungsgeschirre, über den Schutz der Lebensmittel gegen chemische Kampfstoffe und Ausführungen über Warenpflege, über Schädlinge und ihre Bekämpfung, über Haltbarmachungsverfahren, Konservierungs- und Schönungsmittel sowie über die Lebensmittelgesetzgebung. Am Schluß wird die Brotmarktordnung im Auszug mitgeteilt und ein Erlaß über die Bezeichnung von Sojaerzeugnissen zum Abdruck gebracht.

Es ist sehr zu begrüßen, daß dieses amtliche Lehrbuch der Wehrmacht nunmehr der Allgemeinheit zugänglich gemacht worden ist.

R. Fresenius.

Wein. Den Nachweis des Zuckerzusatzes zum Wein wollen E. Timmermann und W. Huntenburg[2]) dadurch führen, daß das aus dem zugesetzten Invertzucker herrührende Oxymethylfurfurol in Lävulinsäure und Ameisensäure übergeführt wird, die Ameisensäure und die begleitenden Aldehyde durch Oxydation in unschädliche Verbindungen umgewandelt werden, die Lävulinsäure mit einem substituierten Hydrazin als krystallisiertes Hydrazon abgeschieden, in Alkali gelöst und mit Säure wieder ausgefällt wird. (Dieses durch D.R.P. 605408 Kl. I v. 1. Juni 1933, ausg. 10. November 1934 geschützte Verfahren bedarf noch sehr der Nachprüfung. Siehe näheres im Patentanspruch; Ausgangsmaterial 3 *l* Wein von etwa 20% Zuckergehalt! A. Gr.)

[1]) Vgl. diese Ztschrft. **93**, 49 (1933). — [2]) D.R.P. 605408; durch Chem. Zentrbl. **106**, I, 811 (1935).

Zum Vorkommen von Oxymethylfurfurol im Wein führt Th. v. Fellenberg[1]) aus, daß Süßweine, die unter Zusatz eingekochten Saftes hergestellt sind, reichliche Mengen Oxymethylfurfurol enthalten. Gibt man zu solchen Süßweinen schweflige Säure zu, so verschwindet sie sehr rasch, indem sie sich an Oxymethylfurfurol bindet. Man kann also durch Bestimmung der aufgenommenen schwefligen Säure den Gehalt an freiem Oxymethylfurfurol annähernd feststellen; hingegen gibt die bereits vorhandene gebundene schweflige Säure ein Maß für das gebundene Oxymethylfurfurol. Fellenberg gibt weiter ein Mikroverfahren zur Bestimmung des Oxymethylfurfurols an, das auf der Verbrennung des nach Fiehe[2]) gefällten Oxymethylfurfurol-Phloroglucids durch Chromsäure beruht.

Arbeitsweise: *Reagenzien.* 1. 32%ige Salzsäure. 2. 16%ige Salzsäure. 3. Phloroglucinlösung: 6,25 *g* Phloroglucin werden in 1 *l* 16%iger Salzsäure gelöst. 4. Verdünnte Schwefelsäure: 5 *ccm* konz. Schwefelsäure werden mit Wasser auf 100 *ccm* verdünnt. 5. 0,2 n-Kaliumdichromatlösung. 6. 0,1 n-Natriumthiosulfatlösung.

Am besten wird so viel Ausgangsmaterial verwendet, daß 0,2—1,3 *mg* Oxymethylfurfurol zur Bestimmung gelangen. Man bringt die Lösung in ein kleines Reagensglas (am besten von 10 *cm* Länge, 1 *cm* innerem Durchmesser und etwas über 8 *ccm* Inhalt), verdünnt sie mit demselben Volumen 32%iger Salzsäure, fügt 1 *ccm* Phloroglucinreagens hinzu, ergänzt das Volumen mit 16%iger Salzsäure auf 8 *ccm*, mischt durch und läßt 24 Stdn. stehen. Nun wird gründlich auszentrifugiert und die klare Lösung vorsichtig abgegossen. Der Niederschlag wird 3mal mit 3 *ccm* verdünnter Schwefelsäure aufgeschüttelt, wieder zentrifugiert und abgegossen. Der ausgewaschene Niederschlag wird nun mit Chromsäure verbrannt. Dabei ist darauf zu achten, daß er gut aufgeschwemmt wird, da er in zusammengebackenem Zustand der Verbrennung widersteht. Man schüttelt daher das Reagensgläschen kräftig, gibt die erforderliche Menge Dichromatlösung hinzu (1—2,5 *ccm*, je nach der Niederschlagsmenge), schüttelt wieder gut durch, fügt nun die doppelte Menge konz. Schwefelsäure hinzu und schüttelt nochmals.

Bei beträchtlicheren Niederschlagsmengen ist die Flüssigkeit zum Schluß etwas zu groß, um in dem kleinen Reagensglas umgeschüttelt werden zu können. Man gießt die Aufschwemmung daher nach Zusatz der Dichromatlösung in ein Reagensglas von üblicher Größe, gibt die erforderliche Schwefelsäuremenge zuerst in das kleine Gläschen und schüttet sie dann in einem Guß hinüber. Nach mindestens 15 Min. langem Stehen spült man die Flüssigkeit mit 20mal mehr Wasser, als Schwefelsäure verwendet worden ist, in einen geräumigen Kolben über, kühlt ab, setzt etwas festes Kaliumjodid zu und titriert mit 0,1 n-Natriumthiosulfatlösung zurück, indem man gleichzeitig durch einen blinden Versuch den Chromsäureverbrauch der verwendeten Schwefelsäure

[1]) Mitt. Lebensmittelunters. u. Hyg. **25**, 249 (1934). — [2]) J. Fiehe und W. Kordatzki, Ztschrft. f. Unters. d. Lebensm. **58**, 69 (1929); vgl. diese Ztschrft. **81**, 254 (1930).

ermittelt. Zum Resultat werden 0,15 *ccm* 0,1 n-Dichromatlösung addiert entsprechend der Löslichkeit des Phloroglucids in der verdünnten Schwefelsäure. 1 *ccm* 0,1 n-Dichromatlösung entspricht 0,394 *mg* Oxymethylfurfurol.

Bei diesem Verfahren von Fellenberg werden die störenden Einflüsse anderer ebenfalls im Wein vorhandener Aldehyde und Stoffe, welche mit Phloroglucin eine Fällung geben, nicht genügend beachtet. C. I. Kruisheer, N. J. M. Vorstman und L. C. E. Kniphorst[1]) haben deshalb ein genaues Verfahren zur Bestimmung kleiner Mengen Oxymethylfurfurol in Süßweinen ausgearbeitet unter Beseitigung störender Einflüsse durch Aldehyde und andere Stoffe sowie unter Rücksichtnahme auf die leichte Oxydierbarkeit des Oxymethylfurfurols durch den Luftsauerstoff. Das Verfahren ist nicht vollkommen quantitativ, genügt aber für praktische Zwecke. Sulfite stören nicht; ebensowenig gibt eine normale Pasteurisierung (im Gegensatz zur Erhitzung über freiem Feuer) oder eine langjährige Lagerung Anlaß zum Auftreten einer meßbaren Menge von Oxymethylfurfurol. Bei Abwesenheit von eingekochtem Most oder Caramel wird nach dieser Methode kein Oxymethylfurfurol gefunden.

Arbeitsweise. 50 *ccm* Wein werden mit n-Lauge gegen Lackmuspapier neutralisiert und im Perforator 2 Tage lang mit Äther ausgezogen. Zu dem etwa 50 *ccm* betragenden Perforat fügt man 10 *g* entwässertes Natriumsulfat und unter Umschwenken 25 *ccm* Petroläther (Siedepunkt 40—60°). Am nächsten Tag gießt man die so getrocknete Flüssigkeit durch ein Filter in ein 200 *ccm*-Erlenmeyerkölbchen und wäscht den Niederschlag noch einige Male mit einer Mischung gleicher Teile Äther und Petroläther nach. Das gesamte Filtrat wird auf dem Wasserbad zum größten Teil abdestilliert. Dann vertreibt man die letzten Flüssigkeitsreste, indem man den Kolben 10 Min. lang in das kochende Wasser einsenkt, während ein trockener sauerstoffreier Kohlensäurestrom durchgeleitet wird. Es ist dabei von Bedeutung, daß der Kolben so tief wie möglich im siedenden Wasser untertaucht, damit einer Kondensation der flüchtigen Verbindungen an den kälteren Teilen der Glaswand vorgebeugt wird. Darauf kühlt man den Kolben schnell ab, setzt 10 *ccm* 16%iger Salzsäure hinzu, schwenkt kurze Zeit um, filtriert durch ein kleines Filter und wäscht mit kleinen Mengen, im ganzen 10 *ccm*, 16%iger Salzsäure nach. Nun setzt man eine frisch bereitete filtrierte Lösung von 0,25 *g* Phloroglucin in 30 *ccm* 16%iger Salzsäure hinzu, so daß das Gesamtvolumen 50 *ccm* beträgt. Ist Oxymethylfurfurol vorhanden, so tritt alsbald eine deutliche Rotfärbung auf, die nach kurzer Zeit in eine Opalescenz und später in eine rote Fällung übergeht. Bei Abwesenheit von Oxymethylfurfurol tritt höchstens eine Gelbfärbung auf; es bildet sich selbst in 24 Stdn. keine Fällung.

Am nächsten Tag wird durch einen Tiegel mit Porzellansiebboden (Schott & Gen. I G 4) filtriert, nötigenfalls unter ganz schwachem Saugen,

[1]) Ztschrft. f. Unters. d. Lebensm. **69**, 570 (1935).

und mit im ganzen 15 *ccm* sehr verdünnter (etwa n-) Salzsäure (nicht mit Wasser) in kleinen Mengen nachgewaschen. Sodann wird im Trockenschrank bei 100° getrocknet und gewogen. Aus dem Gewicht des Phloroglucids wird die Menge des Oxymethylfurfurols mit Hilfe nachstehender Tafel nach J. Fiehe und W. Kordatzki[1]) ermittelt. Durch Multiplikation mit 20 erhält man schließlich den Gehalt an Oxymethylfurfurol in *mg* für 1 *l* Wein.

Phloroglucid *mg*	Oxymethylfurfurol *mg*	Phloroglucid *mg*	Oxymethylfurfurol *mg*	Phloroglucid *mg*	Oxymethylfurfurol *mg*
2	2,3	14	7,5	26	12,4
4	3,3	16	8,3	28	13,2
6	4,3	18	9,1	30	14,0
8	5,1	20	9,9	32	14,8
10	5,9	22	10,7	34	15,6
12	6,7	24	11,6	36	16,3

Durch eine einfache orientierende Vorprobe ist es außerdem möglich, mit ziemlicher Genauigkeit festzustellen, ob die langwierige quantitative Bestimmung Zweck hat. In einem Reagensglas gibt man zu 2 *ccm* Wein (rote oder dunkelgefärbte Weine werden zuvor mit einer kleinen Menge Norit möglichst entfärbt) 2 *ccm* 30%ige Salzsäure und 1 *ccm* einer frisch bereiteten, etwa 0,5%igen Lösung von Phloroglucin in 16%iger Salzsäure. Tritt innerhalb 15 Min. (bei entfärbten Weinen innerhalb 1 Stde.) eine Opalescenz auf, so ist die Anwesenheit von Oxymethylfurfurol sehr wahrscheinlich. Die Schnelligkeit des Auftretens der Opalescenz bzw. eines Niederschlages, bisweilen von einer Rotfärbung begleitet, bildet in gewisser Höhe ein Maß der Menge des Oxymethylfurfurols. Die Beurteilung fordert einige Übung; man sieht die Unterschiede deutlicher, wenn man eine Reihe von Proben verschiedener Weine nebeneinander stellt.

An Hand dieser Methode wurde festgestellt, daß Süßweine, welche ohne Zusatz von eingekochtem Most oder Caramel hergestellt wurden, z. B. reine Portweine, kein Oxymethylfurfurol oder nur eine äußerst geringe Menge davon enthalten. In Süßweinen aus Erzeugungsgebieten, wo der Zusatz von konz. Most üblich ist, werden jedoch meistens meßbare Mengen Oxymethylfurfurol (100—1000 *mg*) gefunden. In manchen mit eingekochtem Most hergestellten Süßweinen lassen sich kleine Mengen Lävulosin (Anhydrid der Lävulose) als Begleitstoff des Oxymethylfurfurols nachweisen. Zu diesem Nachweis werden 50 *ccm* Wein mit 150 *ccm* Wasser und 10 *g* reiner Preßhefe 2 Tage bei etwa 30° vergoren, sodann mit Baritwasser gegen Neutralrot neutralisiert und zentrifugiert. Die Lösung wird auf dem Wasserbad bis auf etwa 100 *ccm*

[1]) Ztschrft. f. Unters. d. Lebensm. 58, 69, 71 (1929); vgl. diese Ztschrft. 81, 254, 255 (1930).

eingeengt und nach der von C. I. Kruisheer[1]) für die Lävulosinmethode zum Nachweis von künstlichem Invertzucker in Honig angegebenen Vorschrift weiter bearbeitet.

W. Huntenburg[2]) benutzt zum exakten Nachweis des Oxymethylfurfurols in Süßweinen dessen Spaltung durch siedende verdünnte Mineralsäure in die sauren Spaltprodukte Ameisensäure und Lävulinsäure. Der Übergang des neutralen Oxymethylfurfurols in diese Spaltstücke ist außerordentlich charakteristisch; außerdem ist die Lävulinsäure leicht in ein beständiges und wohlcharakterisiertes Derivat, das 1-Phenyl-3 methyl-6-oxo- 1, 4, 5, 6-tetrahydropyridazin überzuführen (Misch-Schmelzpunkt korr. 106°). Huntenburg gibt eine Beschreibung der ziemlich umständlichen Ausführung dieses Nachweises von Oxymethylfurfurol in Süßweinen (siehe Original). Quantitativ ist dieser Nachweis nicht; es werden ziemlich konstant 40% des theoretischen Wertes gefunden. Hinsichtlich der ermittelten Mindestgehalte an Oxymethylfurfurol ergeben sich bei den verschiedenen Süßweinen beträchtliche Unterschiede. A. Grohmann-Mainz.

2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche Methoden.

Von

A. Gehring. K. Fresenius.

Literatur. R. Kolkwitz und F. Tödt, Einfache Untersuchungen von Boden und Wasser mit Ausblicken auf die Boden- und Gewässerkunde. VIII, 134 Seiten mit 29 Abbildungen und 2 farbigen Tafeln. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1941. Preis geb. RM. 5.20.

Wie aus dem Geleitwort der Staatlichen Hauptstelle für den naturwissenschaftlichen Unterricht hervorgeht, soll diese Schrift Schülern der höheren Schulen im Rahmen von Arbeitsgemeinschaften die Möglichkeit bieten, durch Versuche die Vorgänge im Boden und im Wasser sowie Vorstellungen über die Biologie der Pflanzen zu erarbeiten. Die geschilderten Methoden sind daher in einfachster Form wiedergegeben, so daß an dieser Stelle eine eingehendere Würdigung unterbleiben kann.

A. Gehring.

Über Lösewirkungen von flüssigem Propan berichtet C. S. Kuhn[3]). Der Verfasser geht von einem Rohmaterial aus, dem Leichtöl und Feuchtigkeit entzogen worden sind. Um ein zur Schichtextraktion mit flüssigem Propan geeignetes, genügend flüssiges Material zu erhalten und das Niederschlagen von Pech im Flüssigkeitsphasen-Druckextraktor auszuschalten, behandelt er den Teer zunächst wie folgt. Er löst ihn nach dem Wägen in $^2/_3$ seines Volumens an chemisch reinem thiophenfreien Benzol und versprüht diese Lösung in einen Überschuß (5:1) von Pentan (Handelspetroleumprodukt vom Siedepunkt 34—40° C), während man das Pentan

[1]) Ztschrft. f. Unters. d. Lebensm. **63**, 413 (1932); vgl. diese Ztschrft. **92**, 58 (1933). — [2]) Ztschrft. f. Unters. d. Lebensm. **71**, 332 (1936). — [3]) Ind. Eng. Chem. Analytical Edition **12**, 86 (1940).

heftig mechanisch umrührt. Durch diese Behandlung wird ein beträchtlicher Teil des Pechs („erster Niederschlag") ausgefällt. Das so ausgezogene Material behandelt man weiter mit dem 5fachen Volumen Pentan, um eine weitere Menge von Pech („zweiter Niederschlag") zu erhalten, und bekommt so einen Auszug, den man „pentanlöslichen Steinkohlenteer" nennt und der in den Versuchen mit flüssigem Propan benutzt wird. In drei solchen Verfahren wurden 34 kg ursprünglichen Teers mit einer Ausbeute von 38,2% pentanlöslichen Materials ausgezogen. Im Original sind Tabellen über das Rohmaterial, die „Niederschläge" des Pentan- und Propanlöslichen und den „Niederschlag" von der Propanextraktion, deren Gewichtsverhältnisse, Ausbeuten, Molekulargewicht, Zusammensetzung, C, H, N, S, O (Diff.) %-Gehalte, Spezifisches Gewicht und Siedepunkte, Schmelzpunkte, Säuren- und Basengehalt und Löslichkeit in Äther usw. einzusehen. Zur Bestimmung des Propanlöslichen in dem so gewonnenen pentanlöslichen Anteil bedient sich der Verfasser einer Chrom-Molybdän-Stahldruckbombe von 3,4 *l* Fassungsraum mit einem Hochdruckpyrexschauglas oberhalb des Kopfes, um ein Beobachten des flüssigen Zwischenzustandes während des Entleerungsvorganges zu ermöglichen. Die Bombe ist durch Zapfen an Kugellagern in einem elektrisch geheizten Thermostatenofen aufgehängt. Ein Zapfen ist mit dem Antrieb eines 0,25 PS-Elektromotors mit Schnelligkeitsreglungsgetriebe verbunden, um die Bombe mit 32 Umdr./Min. umlaufen zu lassen; der andere Zapfen ist mit einer Bohrung versehen, um die Thermopaarleitungen aufzunehmen, die aus der Bombe nach einem Kommutator führen, der dem Zapfenende aufsitzt, so daß man auch während des Rotierens der Bombe Temperaturen ablesen kann. Ein Thermopaar liegt in einer Bohrung des Apparatkopfes, ein anderes in einem Rohr, das tief in das Innere der Bombe hinabreicht. Der Ofen besteht aus zwei Teilen: der obere Teil ist aufgehängt und so ausbalanciert, daß man vollständigen Zugang zum Extraktor hat. Er ist mit einer 7,5 *cm* dicken Schicht eines geeigneten Materials zwischen der Außenwand und der Innenwand isoliert. Die Heizung wird durch einen Ringheizkörper mit 1000 Watt, einen elektrischen Ventilator und einen de Khotinsky-Thermoregulator geregelt und auf konstanter Temperatur gehalten. Das flüssige Propan, Handelsware mit angeblich weniger als 1,5% Äthan, butanfrei mit einem Siedepunkt von —44° C, wird aus einer kalibrierten Stahlbürette (mit Meßglas und oben und unten mit Nadelventilen) hereingemessen. Die Verbindungen vom Handelszylinder für Propan zur Bombe bestehen aus dickwandigen Kupferrohren.

Arbeitsvorgang. Man bringt 100—300 *g* des pentanlöslichen Teers in den Extraktor und verbindet die Bürette mit ihren Kopf- und Bodenventilen mit dem Ventil des Extraktors oben und dem eingeschraubten Zugang. Der Extraktor und die Leitungen macht man dann mittels einer Wasserluftpumpe teilweise luftleer und läßt nach dem Ausgleich des Druckes in dem Apparat durch Entweichen von Propandampf aus der Bürette die gewünschte Menge flüssigen Propans in die Bombe einfließen. Dann schließt man die Ventile, schaltet die angebrachten Zuleitungen ab

und bringt den Extraktor auf die geeignete Temperatur. Das Mischen durch Drehen der Bombe hat man wenigstens 16 Stdn. bei konstanter Temperatur fortzusetzen, um des Ausgleichs der zwei Flüssigkeitsphasen sicher zu sein. Dann läßt man die Bombe in umgekehrter Lage 5 Stdn. stehen, damit das Abfließen und die Teilung der beiden Schichten vor dem Entleeren durch Messingleitungen, die an die beiden oberen Ventile angeschlossen sind, in Glasflaschen gewährleistet ist. Die Flaschen werden der Reihe nach mit U-förmigen Wasserverschlüssen aus Glas und einem geeichten Naßgasmesser zum Messen des Propans verbunden. Sorgfältiges Regeln der Ventile am Kopf und Boden des Bombenkopfes gestatten eine genaue Trennung der beiden flüssigen Phasen. Man sammelt die in die obere und die untere Phase eingegangenen Mengen des pentanlöslichen Teeres, wägt sie und identifiziert sie durch ihre physikalischen Eigenschaften. K. Fresenius.

4. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

R. Fresenius. K. Hinsberg.

Literatur. H. Vogel, Chemie und Technik der Vitamine. VIII, 271 Seiten mit 1 Abbildung. Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart 1940. Preis geb. RM. 22.20.

In der von R. Pummerer herausgegebenen Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge ist als Heft 45 der neuen Folge unter dem Titel „Chemie und Technik der Vitamine" ein Buch erschienen, in dem H. Vogel einen guten Überblick über den heutigen Stand der chemischen Forschung auf dem Gebiet der Vitamine gibt und die Methoden ihrer Darstellung im Laboratorium und in der Industrie behandelt. Da der Verfasser selbst einen Betrieb leitet, der Vitaminpräparate herstellt, kennt er die Schwierigkeiten, die bei ihrer Darstellung auftreten, aus eigener Erfahrung, er weiß aber auch, wie sie zu beheben sind.

Auf eine lesenswerte Einleitung folgt das erste große Kapitel, das die fettlöslichen Vitamine behandelt. Daran schließen sich ein etwa gleich umfangreiches Kapitel, das den wasserlöslichen Vitaminen gewidmet ist, ein kurzer Abschnitt „Ungenügend definierte Vitamine" und ein Kapitel „Vitamine in Biologie und Medizin". Den Beschluß bilden ein Verzeichnis der in Buchform oder in Sammelwerken erschienenen Literatur über Vitamine, ein Patentverzeichnis und ein Sachregister. Die in dem Buch gewählte Einteilung in die drei Gruppen fettlösliche, wasserlösliche und ungenügend definierte Vitamine erscheint zweckmäßiger als die sonst übliche Gliederung nach der Buchstabenbezeichnung der verschiedenen Vitamine.

Bei der großen Bedeutung, die den Vitaminen heute zukommt, wird das Buch gewiß weiten Kreisen willkommen sein.

W. Rudolph, Die Vitamine der Hefe. 130 Seiten. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1941. Preis geb. RM. 8.50.

Zu den Stoffen, die besonders reich sind an Vitaminen, gehört die Hefe. Den in ihr vorliegenden Komplex von Wirkstoffen betrachtet

W. Rudolph in seinem Buch aus der Einheit dieses Nahrungsmittels heraus; er vergleicht ihn mit den entsprechenden Vitaminvorkommen in anderen Lebensmitteln und macht auch Angaben über die Chemie und Physiologie der Hefevitamine. Wer sich also speziell mit den Vitaminen der Hefe beschäftigt oder wer über die einzelnen Fragen der Hefevitamine sich orientieren will, wird das Buch gern zur Hand nehmen.

R. Fresenius.

Lipoide. Eine Übersicht über die analytischen Bedingungen bei der Analyse der Galle zur Bestimmung der Gallensäuren stammt von B. Josephson und G. Jungner[1]).

Wie J. G. Reinhold[2]) berichtet, wird die Reaktion von Pettenkofer (Furfurolaldehyd und Schwefelsäure) von einfacher und gepaarter Desoxycholsäure nicht gegeben, ebenso auch nicht von Cholan-Bilian-Dehydrocholsäure usw. und Cholesterin, wohl aber von freier und veresterter Cholsäure. Bei der colorimetrischen Auswertung gilt das Beersche Gesetz. Von Taurinstickstoff kann der gesamte Stickstoff nach der Methode von D. D. van Slyke erfaßt werden, und zwar besser als nach G. Folin. Die ebenfalls vorkommenden freien Säuren werden nicht erfaßt. Zur Hydrolyse der gebundenen Säuren muß man 15%ige Kalilauge verwenden und mindestens 12 Stdn. hydrolysieren. Dabei geht ein Teil des Stickstoffs fast immer verloren. Die Hypobromitmethode nach L. Cuny[3]) gibt nur unzuverlässige Werte. Will man die Gallensäuren polarimetrisch bestimmen, so genügt nicht die Extraktion im Scheidetrichter; es wird daher von den Verfassern vorgeschlagen, in einer Art Soxhlet-Apparat mit einer Mischung von 4 Teilen Äther und 1 Teil Petroläther unter mehrfachem Ansäuern und Alkalisieren zu extrahieren, bis im wäßrigen Teil die Pettenkofersche Reaktion negativ ist. Dies ist nun kein eindeutiger Beweis für die vollständige Extraktion, da die Empfindlichkeit mit steigender Salzkonzentration nachläßt. Auch die polarimetrische Bestimmung ist bei einem Gemisch verschiedener Gallensäuren nicht absolut quantitativ, weil die Drehung der besonders bei Menschen- und Schweinegalle vorkommenden Anthropodesoxycholsäure und der Hyocholsäure anders ist als die der normalen Gallensäuren. Man mißt am besten in einem 20 oder 40 *cm*-Rohr bei einer Wellenlänge von 6563 oder 5893 Å oder bei Anwesenheit störender Farbstoffe bei 6867 Å. Durch Ätherextraktion ist eine Trennung der freien und der gepaarten Säuren nicht zu erreichen. Nach der Abtrennung des Cholesterins aus dem alkalischen Extrakt bzw. Hydrolysat können die Gallensäuren auch in der alkalischen Flüssigkeit direkt polarimetrisch bestimmt werden, wobei aber zu beachten ist, daß die Drehung vom Salzgehalt abhängig ist. Es wird daher vorgeschlagen, eine bekannte Menge $NaHCO_3$ und KOH zuzusetzen. Der hohe Gehalt an Gallenfarbstoffen ist aber oft sehr störend und macht die Polarisation unmöglich.

Bei der Fluorescenz in Schwefelsäure ist zu beachten, daß die Fluor-

[1]) Biochemical Journ. **30**, 1953 (1936). — [2]) J. G. Reinhold und D. W. Wilson, Journ. of biol. Chem. **96**, 637 (1934). — [3]) Journ. Pharm. Chim. (8) **12**, 485 (1930).

escenz von Cholsäure etwa 10mal stärker ist als die von Desoxycholsäure und außerdem abhängig vom Salz- und Fettgehalt. Wird die Taurocholsäure aus dem Schwefelgehalt berechnet, so ist zu berücksichtigen, daß einzelne schwefelhaltige Stoffe, die nicht zu den Gallensäuren gehören, sich noch nicht abtrennen lassen. Das geht u. a. daraus hervor, daß, unter Umständen, aus dem S-Gehalt berechnet, mehr Taurin vorhanden war als den gesamten Gallensäuren entsprach. Bei sehr hohem S-Gehalt wird weiter angenommen, daß auch Schwefelsäureester der Gallensäuren vorkommen.

Durch Kombination verschiedener Verfahren glauben die Verfasser das Verhältnis der einzelnen Gallensäuren berechnen zu können.

1. Zur Analyse wird die Galle mit Alkohol gemischt, gekocht, auf das 10fache Volumen aufgefüllt, filtriert und unter Zusatz von etwas $NaHCO_3$ zur Trockne verdampft.

2. Die polarimetrische Methode muß als ungenügend betrachtet werden, weil die nach ihr gefundenen Werte mit denen keiner anderen Methode übereinstimmen. Dies beruht sicher auf einer Zerstörung der Säuren während der Hydrolyse und Extraktion. Bei Schweine- und Meerschweinchen-Galle war die Furfurol-Reaktion meist negativ, was die Abwesenheit von Cholsäure beweist. Da die Hyocholsäure linksdrehend ist, nimmt es nicht Wunder, daß die polarimetrischen Werte zu klein sind.

In jenen Gallen (Kuh, Kaninchen, Katze, Fuchs und Meerschweinchen), wo die gasometrische Methode wesentlich niedrigere Werte liefert als die colorimetrischen und polarimetrischen Analysen, soll eine große Menge von ungebundenen Säuren vorhanden sein. Dort, wo die gasometrische Methode mehr ergibt als die colorimetrische, muß hingegen viel Desoxycholsäure vorhanden sein, die keine Farbreaktion gibt. In einigen Gallen, besonders in Hundegalle, waren die gasometrischen Werte sehr hoch im Vergleich zur colorimetrischen und polarimetrischen Bestimmung. Dies zeigt linksdrehende Stoffe und alkohollösliche N-haltige Stoffe an. Der S-Gehalt schwankt in weiten Grenzen. Es müssen andere S-haltige Stoffe mitbestimmt werden. Beim Hund muß außerdem noch außer der Taurocholsäure eine andere S-haltige gebundene Gallensäure vorhanden sein. Die menschliche Leichengalle, die 2—3 Stdn. nach dem Tode gesammelt wurde, ergab kein einheitliches Bild.

Im allgemeinen sind die gasometrischen Werte am höchsten, was anzeigt, daß große Mengen von gebundener Gallensäure da sein müssen, die keine colorimetrische Reaktion geben. Die Schwefelanalyse beweist, daß ziemlich ebensoviel Tauro- wie Glyko-Cholsäure vorhanden sein muß. Auf Grund der analytischen Studien scheint es schwierig, diagnostische Schlüsse aus der Gallenanalyse zu ziehen.

Eine angeblich sehr genaue Modifikation der Vorschrift von Y. Abe[1]) zur Mikrogallensäurebestimmung gibt S. Kawaguchi[2]).

[1]) Journ. of Biochem. 25, 181 (1937). — [2]) Journ. of Biochem. 28, 445 (1938).

Der Verfasser baut das Differenzverfahren von Abe zur gleichzeitigen Bestimmung von Chol- und Desoxycholsäure so aus, daß man auch in kleineren Proben (100—600 γ) die beiden Säuren exakt nebeneinander bestimmen kann; Lösungen, die größere Mengen dieser beiden Säuren enthalten, müssen entsprechend verdünnt werden. Um diese Genauigkeit zu erreichen, müssen die Konzentrationen der Reagenzien sehr genau festgelegt sein. Die verdünntere (rund 78%ige) Phosphorsäure soll bei 22° ein spezifisches Gewicht von 1,625, die konzentriertere (89%ige) ein solches von 1,750 zeigen. Die Vanillinlösung stellt man her, indem man 5 *g* reinstes Vanillin in 250 *ccm* 96%igem Alkohol löst. Zu den Eichversuchen wurden die reinen Gallensäuren in Äthanol gelöst, hierzu 0,4 *ccm* der Vanillinlösung gegeben, der Alkohol wurde sorgfältig abgedampft. Darauf folgten: ein Zusatz von 2,5 *ccm* Phosphorsäure und Erhitzen (89%ige Säure 8 Min. bei 70°; 78%ige Säure 10 Min. bei 50°), Messung mit Stufenphotometer, Filter L_{II}. Für 1 *mg* Desoxycholsäure erhält man einen Extinktionskoeffizienten von 0,0984, für Cholsäure mit der stärkeren Säure einen solchen von 0,158, mit der schwächeren einen solchen von 0,126; das Verhältnis dieser beiden Zahlen ist also 1,253. Man bestimmt demnach in einem unbekannten Gemisch der beiden Säuren die Cholsäure mit der 78%igen Phosphorsäure; den so gefundenen E-Wert multipliziert man mit 1,253 und zieht ihn von dem E-Wert ab, den man im Gemisch mit der 89%igen Säure gefunden hat; der verbleibende Wert entspricht der Extinktion der Desoxycholsäure allein. In einigen Versuchen mit 300 γ Cholsäure und 100—300 γ Desoxycholsäure ließen sich die beiden Säuren mit einem Fehler von höchstens $\pm$ 1% bestimmen.

A. v. Christiani und V. Anger[1]) haben sich mit dem Nachweis von Ergosterin befaßt. Die bisher bekannten Reaktionen auf Ergosterin sind unspezifisch und lassen höchstens 100 γ erkennen. Nach der Methode von O. Rosenheim[2]) ist bei Sterinen mit OH-Gruppen neben der Doppelbindung die Reaktion intensiver als beim Ergosterin. Deshalb wird Ergosterin mit Bleitetraacetat wahrscheinlich zu Ergostadientriol oxydiert. Nach Zusatz von Trichloressigsäure entsteht keine Rotfärbung, wie erwartet, sondern intensive grüne Fluorescenz, die einem Ergostatrienon zugeschrieben wird, das bei Oxydation mit Bleitetraacetat in $CHCl_3$ entstehen soll. Ergosterinester geben eine Rotfärbung, wodurch eine Unterscheidung vom freien Ergosterin möglich ist. Cholesterin stört nicht.

Reagenzien. Trichloressigsäure, 90%ige Lösung in Wasser, Bleitetraacetat, 0,25%ige[3]) Lösung in Eisessig, Chloroform.

Ausführung. Die Probe wird in wenig Chloroform gelöst und mit 1 *ccm* Trichloressigsäure und 1 Tropfen Bleitetraacetat-Lösung versetzt. Bei Anwesenheit von Ergosterin entsteht eine bald verblassende rosaviolette Färbung. Erfassungsgrenze: Ergosterin 2 γ; Dehydrocholesterin 1 γ;

[1]) Ber. Deutsch. Chem. Ges. **72**, 1124 (1939). — [2]) Biochemical Journ. **23**, 47 (1928). — [3]) Nach einer weiteren Mitteilung [Ber. Deutsch. Chem. Ges. **72**, 1482 (1939)] ist die Bleikonzentration in der ersten Veröffentlichung mit 0,5% zu hoch angegeben worden, sie soll nur 0,25% betragen.

Ergosterylacetat 1 γ; Ergosterylbutyrat 1 γ; Ergostadientriol 0,5 γ (auch ohne Bleitetraacetat).

Zur Unterscheidung von Ergosterin und Ergosterinester löst man etwa 100 γ Sterin in 1 *ccm* Chloroform, versetzt mit 1 Tropfen Bleitetraacetat und fügt nach einigen Sekunden 1 *ccm* Trichloressigsäure zu. Grüne Fluorescenz kennzeichnet Ergosterin; Rosafärbung, bald verblassend, Ester.

Erfassungsgrenze auf der Tüpfelplatte noch 0,1 γ Ergosterin.

Eine näherungsweise Schätzung der Fette in Faeces kann man nach R. Ehrström[1]) in folgender Weise durchführen: Ein haselnußgroßes Stück Stuhl wird in einem halben Reagensglas voll Äther möglichst fein mit einem Glasstab verteilt und einige Minuten geschüttelt. Das Filtrat wird auf einem Uhrglas gesammelt; nachdem der Äther freiwillig verdunstet ist, kann man aus der Menge des Rückstandes bei einiger Übung den Fettgehalt der Faeces schätzen. Auch ist eine mikroskopische Untersuchung des Rückstandes möglich; im Original befinden sich Abbildungen, die eine erste Orientierung gestatten. Da aber in den Faeces zum großen Teil auch Kalkseifen vorliegen, ist diese Methodik natürlich nur sehr grob.

Mit dem Vorkommen des Squalens, eines hochungesättigten Kohlenwasserstoffes, haben sich K. Täufel, H. Thaler und G. Widmann[2]) beschäftigt. Weder mit der Jodzahl nach Hanuš oder anderen Verfahren, noch durch Vakuum- und Hochvakuumdestillation läßt sich Squalen bestimmen, da es im Unverseifbaren unter natürlichen Verhältnissen mit sehr vielen anderen Stoffen (darunter Ergosterin) verunreinigt vorliegt. Durch chromatographische Adsorptionsanalyse an Aluminiumoxyd in Hexan oder Benzol läßt es sich auf das Mehrfache anreichern; andere Adsorbentien und Lösungsmittel sind weniger geeignet. Als einfachste Methode zur Bestimmung kommt die Fällung als Hexahydrochlorid in stark abgekühltem Aceton in Frage. 2 *g* Unverseifbares übergießt man mit 6 *g* bei —5° mit HCl gesättigtem Aceton, hält im Kältegemisch und leitet 3 Stdn. lang trockenes HCl-Gas durch. Dann saugt man auf einer Frittennutsche ab und wäscht 2mal mit HCl gesättigtem Aceton und 1mal mit kaltem Äther nach (Ausbeute etwa 80%). Zur Identifizierung genügen 0,03 *g* Squalen in einem nicht mitreagierenden Verdünnungsmittel (1 : 100). Die Erfassungsgrenze liegt also bei 0,15–0,015% Squalen in 100 *g* Fett mit 0,5—5,0% Unverseifbarem; mit 2 *mg* Squalen in 3 *g* mit HCl gesättigtem Aceton tritt noch eine Rotfärbung auf. Entsteht auch nach chromatographischer Anreicherung kein Niederschlag, so ist mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß keine in Betracht kommenden Mengen Squalen vorliegen. Nach diesem Verfahren wurde Fett verschiedenster Herkunft — von Schimmelpilzen, Mutterkorn, Pinienkernen, Haselnuß, Kakaobutter, Mandarinenkernen, Weizenkeimlingen, Mehlwürmern und das Bauchfett von Enten — untersucht. In keinem der Fette wurde jedoch Squalen gefunden. Es konnte auch

[1]) Acta med. Skand. **90**, 298 (1938). — [2]) Biochem. Ztschrft. **300**, 354 (1939).

nicht mit Sicherheit in den krystallinen Fällungen nachgewiesen werden, die mit HCl in dem Weizenkeimlings- und Mehlwurmöl entstanden waren. Das Vorkommen von Squalen beschränkt sich anscheinend auf das Fett einiger weniger Pflanzen- und Tierarten. Eigenartigerweise leben die beiden Organismen, bei denen Squalen bisher in größerer Menge festgestellt worden ist, nämlich die Haifische und die Hefe, unter grundsätzlich verschiedenen Bedingungen und haben auch sonst keinerlei biologische Beziehungen zueinander. Von der biologischen Bedeutung des Squalens wissen wir daher noch nichts.

Um Lecithin, Cephalin, ätherunlösliche Phosphatide und Cerebroside in Plasma, roten Blutkörperchen oder Geweben angenähert zu bestimmen, gibt E. Kirk[1]) eine Methode an. Das Prinzip ist folgendes. Die gesamten Lipide werden nach W. R. Bloor[2]) extrahiert und durch Petrolätherextraktion nach E. Kirk, I. H. Page und D. D. van Slyke isoliert. Die Phosphatide werden in Aceton mit $MgCl_2$ gefällt, der Niederschlag wird mit feuchtem Äther behandelt, wodurch Lecithin und Cephalin in Lösung gehen. Darin wird Lecithin durch Bestimmung des Cholins und Cephalin aus dem Gesamtwert durch Subtraktion des Lecithins berechnet. Die ätherunlöslichen Phosphatide werden durch P-Bestimmung in dem Rückstand des Ätherextraktes berechnet. Schließlich werden die Cerebroside in einer nach P. Kimmelstiel[3]) modifizierten Methode analysiert, über die nachstehend berichtet wird, oder titrimetrisch nach W. Roman[4]). Es werden dazu die Reagenzien gebraucht, die W. R. Bloor[2]) beschrieben hat, ferner eine gesättigte wäßrige Bariumhydroxydlösung, alkoholische 0,2%ige Phenolphthaleinlösung, eine Jodlösung, enthaltend 15,7 *g* Jod und 20 *g* Kaliumjodid in 100 *ccm* Wasser, Eiswasser, Chloroform und 0,005 n-Thiosulfatlösung. Zur Bestimmung des Cephalins werden die Reagenzien benötigt, die zur gasometrischen Kohlenstoffbestimmung von D. D. van Slyke, I. H. Page und E. Kirk[5]) angegeben worden sind.

Zur Extraktion werden 3—5 *ccm* Plasma oder 2—5 *g* rote Blutkörperchen mit 100 *ccm* Alkohol-Äther-Mischung, am besten mit etwas Sand verrieben, verwendet. Die Alkohol-Äther-Mischung wird im Vakuum unterhalb 60° verdampft und der Rückstand der Lipide in Petroläther aufgenommen. Es wird dann durch ein Porzellanfilter filtriert und auf 50 *ccm* aufgefüllt. 15 *ccm* dieses Extraktes werden in einem Zentrifugenglas, in dem sich ein wenig Wasser befindet, unter Zuhilfenahme einer einseitig zugeschmolzenen Capillare verdampft.

Fällung der Phosphatide: Wenn die Probe auf 1 *ccm* eingedampft ist, gibt man 7 *ccm* Aceton und 3 Tropfen Magnesiumchloridlösung zu, rührt 10 Min. und zentrifugiert dann 5 Min. bei 2000 Umdrehungen. Der Niederschlag und die Ränder des Glases werden mit 3 *ccm* Aceton gewaschen; dann zentrifugiert man wieder, dekantiert und entfernt schließlich die letzten Tropfen Aceton. Zu dem Rückstand bringt man 5 *ccm*

[1]) Journ. of Biol. Chem. **123**, 623 (1938). — [2]) Journ. of Biol. Chem. **82**, 273 (1929). — [3]) Vgl. diese Ztschrft. **97**, 461 (1934). — [4]) Vgl. diese Ztschrft. **94**, 455 (1933). — [5]) Vgl. diese Ztschrft. **101**, 229 (1935).

feuchten Äther und verreibt den Niederschlag sorgfältig, wobei ein großer Teil in Lösung geht. Nach 5 Min. zentrifugiert man wieder, hebert den überstehenden, klaren, feuchten Äther ab und zieht den Rückstand nochmals mit 3 *ccm* Äther aus, der zu dem ersten Anteil zugefügt wird. Man sammelt praktischerweise in einem Zentrifugenglas mit Einteilung in $^1/_{10}$ *ccm*, um das Bariumsulfat gleich messen zu können (s. u.). Dann füllt man die Äthervoluma auf 10 *ccm* auf und bestimmt in 1 *ccm* den Phosphor nach Verbrennung. Von dem Rest werden 8 *ccm* Äther auf einem Wasserbad verdampft und zu dem trockenen Rückstand 3 *ccm* gesättigte Bariumhydroxydlösung zugefügt; danach wird das Glas gut verschlossen und 30 Min. in ein Wasserbad gestellt. Nach dieser Zeit wird unter Zusatz von 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung mit 5%iger Schwefelsäure neutralisiert, das Volumen auf 5 *ccm* aufgefüllt, 2 Min. lang bei 1000 Umdrehungen zentrifugiert, um das Bariumsulfat niederzuschlagen, und sein Volumen gemessen, um das Volumen der flüssigen Phase feststellen zu können. Im allgemeinen ist die überstehende Flüssigkeit klar, gelegentlich auftretende Trübungen können durch Zusatz von 1 Tropfen Schwefelsäure entfernt werden. Man nimmt von der überstehenden Flüssigkeit 2 *ccm*, was ungefähr 6 *ccm* des ursprünglichen Petroläther-extraktes ausmacht, gibt 0,6 *ccm* Jodreagens zu, zentrifugiert 10 Min. lang bei 2000 Umdrehungen, wäscht den Niederschlag, der aus dem Perjodid des Cholins besteht, nacheinander mit 2 oder 3 Anteilen eiskalten Wassers so lange, bis die überstehende Flüssigkeit farblos ist. Um nichts vom Niederschlag zu verlieren, ist zu empfehlen, das Waschwasser durch ein Porzellanfilter (Jena G 3) abzusaugen. Da der Niederschlag in Eiswasser etwas löslich ist, muß das Auswaschen so schnell wie möglich durchgeführt werden. Wenn das Auswaschen beendet ist, setzt man 1—2 *ccm* Chloroform zu, wobei sich der Niederschlag mit roter Farbe löst. Auch die an dem Porzellanfilter haftenden Reste werden mit $CHCl_3$ abgelöst. Man titriert nun mit 0,005 n-Thiosulfatlösung; der Verbrauch in Kubikzentimetern, multipliziert mit 0,067, gibt den Lecithingehalt der Probe an. Das letzte Kubikzentimeter des Petrolätherextraktes wird zur Cephalinbestimmung benutzt und in die Verbrennungskammer nach van Slyke, Page und Kirk eingeführt. Nachdem der Äther verdampft ist, wird der Kohlenstoff gasometrisch bestimmt und der gesamte Lecithin- und Cephalin-Gehalt durch Multiplikation des Kohlenstoffwertes mit 1,52 errechnet. Das Cephalin errechnet sich, indem von diesem Wert der zuvor gefundene Lecithinwert abgezogen wird. Der Lecithin- und Cephalingehalt kann auch durch Phosphorbestimmung kontrolliert werden. Die ätherunlöslichen Phosphatide, die im Zentrifugenglas zurückbleiben, werden in 95%igem Alkohol gelöst, in einen Verbrennungskolben übergeführt und verascht; der Phosphor wird in üblicher Weise bestimmt. Der so gefundene Phosphor, multipliziert mit 25,8, ergibt den Gehalt an ätherunlöslichen Phosphatiden.

E. Kirk[1]) hat ebenfalls eine gute Methode zur Bestimmung der Cerebroside aus dem Gehirn ausgearbeitet, die sich an die Methode

[1]) Journ. of Biol. Chem. **123**, 613 (1938).

von P. Kimmelstiel anlehnt. Dieser Autor hydrolysiert die trockenen Lipide mit Salzsäure in 15—18 Min. bei 112°. Dieses unter Umständen etwas komplizierte Vorgehen kann durch 10 Min. langes Erhitzen im kochenden Wasserbad ersetzt werden. Im übrigen wird die abgespaltene Galactose nach der Methode von H. C. Hagedorn und B. N. Jensen[1]) bestimmt und daraus der Gehalt an Cerebrosiden berechnet.

Reagenzien. 3 n-Salzsäure, etwa 5 n-Natriumcarbonatlösung, ungefähr n-Salzsäure, 0,1 n-Natronlauge, eine 0,1%ige wäßrige Lösung von Phenolrot und eine 4,5%ige Lösung von krystallisiertem Zinksulfat, weiter die Reagenzien von Hagedorn-Jensen zur Zuckerbestimmung.

Die Cerebroside extrahiert man in bekannter Weise mit Alkohol und verdampft die Lösung, die nicht mehr als 1 *mg* Substanz enthalten soll, in einem gewöhnlichen Glas nach Hagedorn-Jensen zur Trockne. Den trockenen Rückstand erhitzt man mit 5 *ccm* Wasser 10 Min. in einem kochenden Wasserbad und setzt nach dem Abkühlen 5 *ccm* Zinksulfatlösung und daraufhin genau 2 *ccm* 0,1 n-Natronlauge zu. Hierzu benutzt man am besten Büretten. Der Inhalt des Glases wird dann filtriert und in einem Hagedorn-Jensen-Glas aufgefangen, das eine Marke bei 17 *ccm* trägt. Als Filter benutzt der Autor Baumwolle, die ebenso wie das erste Glas mit 1—2 *ccm* destilliertem Wasser mehrmals nachgewaschen wird. Man füllt alsdann auf 17 *ccm* auf, gibt 2 *ccm* Ferricyanidlösung zu und verfährt im übrigen nach der Vorschrift von Hagedorn-Jensen (Eigenreduktion A). Ein Leerversuch, bei dem man Wasser anstatt der Lipidemulsion anwendet, wird ebenfalls in derselben Weise durchgeführt (B). Um die Gesamtreduktion (C) nach Hydrolyse zu bestimmen, wird der trockene Rückstand der Cerebroside wie oben mit 4 *ccm* der 3 n-Salzsäure versetzt und 10 Min., bedeckt mit einem Trichter, dessen Ablaufrohr durch eine kleine Glaskugel verschlossen ist, in einem Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird 1 Tropfen Phenolrot als Indikator zugesetzt und mit 5 n-Sodalösung bis zum Auftreten der roten Farbe des Indikators neutralisiert, darauf aber mit n-Salzsäure wieder bis Gelb zurücktitriert. Endlich wird mit 0,1 n-Natriumhydroxydlösung genau neutralisiert. Zu dieser Lösung kommen dann 0,5 *ccm* Zinksulfatlösung und 2 *ccm* 0,1 n-Natronlauge. Dann wird wie oben beschrieben filtriert usw. Ein Leerversuch für die Hydrolyse (Wert D) wird ausgeführt, indem man Wasser anstatt der Lipidemulsion nimmt. Die Berechnung gestaltet sich folgendermaßen:

Selbstreduktion = Wert A—B, Gesamtreduktion = Wert C—D, Cerebrosidgehalt = Gesamtreduktion — Selbstreduktion, ausgedrückt in Galactosewerten nach Kimmelstiel, multipliziert mit 4,6.

Für die Umrechnung von 0,005 n-Thiosulfatlösung in Galactosewerte dient die auf Seite 156 folgende Tabelle.

Nach der oben beschriebenen Methode hat E. Kirk[2]) Plasma und Erythrocyten von normalen erwachsenen Menschen untersucht. Obschon das Alter nur zwischen 19 und 31 Jahren schwankte, sind die individuellen

[1]) Vgl. diese Ztschrft. **68**, 317 (1926). — [2]) Journ. of Biol. Chem. **123**, 636 (1938).

ccm 0,005 n-Thiosulfatlösung	Hundertstel von 1 *ccm* 0,005 n-Thiosulfatlösung									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,1	443	440	438	435	433	430	428	425	423	420
0,2	417	415	413	410	407	404	402	400	398	394
0,3	392	390	387	384	382	379	377	374	372	368
0,4	367	364	362	359	356	354	351	349	346	342
0,5	340	338	336	333	330	327	325	322	320	318
0,6	316	314	311	308	306	304	302	299	297	294
0,7	292	290	288	285	283	280	278	275	273	271
0,8	269	266	264	261	259	256	254	252	249	247
0,9	244	242	240	237	235	232	230	228	226	224
1,0	221	218	216	214	211	209	207	204	202	200
1,1	198	195	193	190	188	186	184	181	179	177
1,2	174	172	170	167	165	162	160	158	155	153
1,3	151	148	146	144	142	140	138	135	133	131
1,4	129	126	124	122	120	118	115	113	111	109
1,5	106	104	102	100	98	96	94	92	89	87
1,6	85	83	80	78	76	74	71	69	67	64
1,7	62	60	58	55	53	51	49	46	44	42
1,8	40	38	36	33	32	30	28	26	24	22
1,9	20	18	16	14	12	10	8	6	4	2

Werte sehr verschieden. Ein Einfluß des Geschlechtes kann aus den mitgeteilten Zahlen nicht erkannt werden. Die Mittelwerte dieser 20 Fälle, ausgedrückt in *mg*-%, sind folgende:

	Gesamtfett	Gesamtphosphat	Ätherlösliches Phosphat	Lecithin	Cephalin	Cerebroside
Plasma	559	145	58	19	68	42
% der gesamten	(369—902)	(54—235)	(17—156)	(0—64)	(18—172)	(0—167)
Phosphate . .	—	—	40%	13%	47%	
Erythrocythen.	400	196	47	32	117	51
% der gesamten	(180—742)	(26—297)	(13—157)	(3—95)	(3—203)	(0—113)
Phosphate . .	—	—	24%	16%	60%	

Die Bestimmung des Cephalins in den Phosphorlipoiden geschieht nach H. H. Williams, B. N. Erickson, I. Avrin, S. S. Bernstein und I. G. Macy[1]) in der Weise, daß einerseits der Phosphor des Lipoidextraktes bestimmt wird und andererseits das Cholin nach der Vorschrift von Florence Beattie. Da in Cephalin kein Cholin vorkommt, kann aus

[1]) Journ. of Biol. Chem. **123**, 111 (1938).

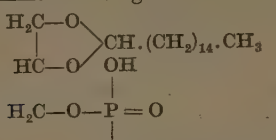
diesen beiden Daten der Cephalingehalt berechnet werden. Die Methode von Beattie wird nachgeprüft und als genau bezeichnet.

Die Lipoidextrakte werden nach Bloor[1]) hergestellt; dabei wird beobachtet, daß es wesentlich ist, das Lösungsmittel im Vakuum unter Abschluß von Luft abzudampfen. Bei Zutritt von Luft tritt eine Veränderung der Lipoide ein, so daß sie nachher nur noch zum Teil petrolätherlöslich sind. Der Analysenvorgang ist im einzelnen folgender: Die Phosphorlipoide werden mit einem Alkohol-Äthergemisch (3:1) aus Plasma, Erythrocyten, Stroma oder Organen extrahiert; diese Lösung wird dann unterhalb 50° in einem Stickstoffraum vollkommen verdampft. Die Lipide werden mit kochendem Petroläther in ein 50 *ccm*-Zentrifugenglas übergeführt und klar zentrifugiert. Ein Teil wird zur Bestimmung des Phosphors in üblicher Weise verwendet, ein zweiter Teil in einem Erlenmeyerkolben mit 15 *ccm* 95%igem Äthylalkohol und 1 *ccm* gesättigter Bariumhydroxydlösung auf einem Wasserbad zur Trockne verdampft. Die letzten Alkoholspuren werden durch einen Luftstrom vertrieben. Dann fügt man 0,6 *ccm* n-Salzsäure zu und extrahiert die saure Lösung 3mal mit je 10 *ccm* kochendem Petroläther. Der Kolbenrückstand wird hierauf mit einer kleinen Menge destillierten Wassers in ein Reagensglas übergeführt, auf ungefähr 6 *ccm* aufgefüllt und die Lösung mit 1 *ccm* frischer gesättigter Lösung von Reineckesalz in Wasser versetzt. Diese Menge reicht für 3 *mg* Cholin-HCl aus. Nach 10 Min. ist die Fällung beendet, der Niederschlag wird in einen Filtertiegel abgesaugt, mit 2 *ccm* eiskaltem Wasser und nun so lange mit absolutem Alkohol gewaschen, bis dieser nicht mehr rot gefärbt ist. Alsdann wechselt man die Vorlage, löst den Niederschlag in etwa 1 *ccm* Aceton, das man in einem kleinen graduierten Glasgefäß auffängt. Man wäscht mit Aceton nach, bis alles gelöst ist, füllt auf ein bekanntes Volumen auf und kann diese Lösung direkt colorimetrieren. Die Reineckatlösung ist wenig beständig, deshalb wird als Vergleichslösung Methylrot vorgeschlagen. 0,0134 *g* Methylrot werden in 5 *ccm* 0,2 n-Natronlauge gelöst und auf 500 *ccm* aufgefüllt, davon 4 *ccm* mit 10 *ccm* 0,01 n-Schwefelsäure auf 100 *ccm* aufgefüllt. Der Farbton dieser Lösung entspricht demjenigen einer 0,078%igen Acetonlösung von Cholin-Reineckat bzw. 0,26 *mg* Cholin-HCl/*ccm*.

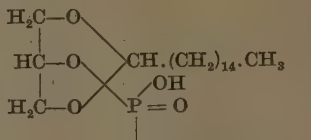
Eine ganz ähnliche Methode wie E. Kirk geben G. Ellis und L. A. Maynard[2]) an. Die Extraktion erfolgt nach Bloor, der Extrakt wird im Vakuum verdampft und in Petroläther aufgenommen. Die Fällung der Lipoide erfolgt ebenfalls mit Magnesiumchlorid in Alkohol. Nach ihrer Vorschrift sollen sich auch die Fettsäuren summarisch bestimmen lassen. Auch die Vorschrift von R. N. Chopra und A. C. Roy[3]) bietet nichts Neues. Um den Phosphor in dem Alkoholätherextrakt zu bestimmen, verascht man mit Schwefelsäure-Salpetersäure in einem Glycerinbad von 180°, bis die Nitrosen verschwunden sind, was ungefähr 20 bis 30 Min. dauert. Danach wird zur Sicherheit nochmals mit Perhydrol verascht und schließlich der Phosphor nach Zugabe von Ammoniummolybdat, Hydrochinon und Natriumsulfit colorimetrisch bestimmt.

[1]) a. a. O. — [2]) Journ. of Biol. Chem. **118**, 701 (1937). — [3]) Indian. Journ. med. Res. **24**, 479 (1936).

Das Plasmalogen stellt ein Phosphatid dar, das ähnlich gebaut ist wie das Cephalin, aber statt der Fettsäuren deren Aldehyde enthält. Es kommt ihm folgende Konstitution zu:

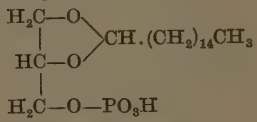


α-Palmitalplasmalogen



β-Plasmalogen.

Durch Abspaltung des Colaminanteils kommt man zu der Plasmalogensäure und durch weitere Spaltung zum Plasmal, einem Gemisch von Aldehyden mit 16 und 18 C-Atomen, unter denen bis jetzt der Palmitin- und Stearinaldehyd erkannt sind.



α-Plasmalogensäure.

Die Bestimmung gründet sich auf die bekannte Eigenschaft von Aldehyden, mit fuchsinschwefliger Säure Farbverbindungen zu liefern, die im Gegensatz zu den entsprechenden Verbindungen der niederen Aldehyde sehr stabil sind. Mit H. Grünberg[1]) hat R. Feulgen, der die Plasmalogene entdeckt hat, auch ein Bestimmungsverfahren ausgearbeitet, das für Lipoidgemische und Organe angewendet werden kann.

Die fuchsinschweflige Säure wird in folgender Weise hergestellt:

In einem Erlenmeyerkolben übergießt man 1,0 *g* Fuchsin mit etwa 700 *ccm* siedendem Wasser, gibt nach der Lösung 100 *ccm* n-Salzsäure zu und löst dann noch 5,00 *g* Natriumbisulfit darin auf. Es wird auf 1000 *ccm* aufgefüllt. Die Ausbleichung der Farbe nimmt etwa 24 Stdn. in Anspruch. Beim Aufbewahren ist ein Entweichen des Schwefeldioxyds zu verhindern.

Weiter wird gebraucht eine 6%ige Lösung von Sublimat, das die Spaltung des Plasmalogens in die Aldehyde katalysiert. Zur Bestimmung löst man das genau abgewogene Lipoid in der 1000fachen Menge Eisessig, nimmt hiervon 1,0 *ccm*, vermischt mit 10 *ccm* fuchsinschwefliger Säure und 3 Tropfen Sublimatlösung, läßt bei Zimmertemperatur verschlossen bis zur maximalen Farbentwicklung stehen, die gewöhnlich nach 4 Stdn. erreicht ist. Der Sicherheit halber bleibt der Ansatz besser über Nacht stehen. Nach dieser Zeit gibt man aus einer Pipette 10,0 *ccm* Amylalkohol zu, schüttelt 2 Min. kräftig durch, wobei es zu vermeiden ist, daß sich das Gemisch durch die Hand erwärmt. Am besten ist es, unter einer fließenden Wasserleitung zu schütteln und den Kolben nur am Hals anzufassen. Die Schichten werden durch Zentrifugieren getrennt. Das.

[1]) Ztschrft. f. physiol. Chem. 257, 161 (1939).

Zentrifugenglas wird 1 Stde. neben dem Colorimeter belassen und dann der Amylalkohol mit einer Pipette, deren Spitze nach oben umgebogen ist, abgehoben, in eine Küvette des Stufenphotometers gefüllt und die Extinktion mit Filter S 53 bestimmt. Auf die Kompensationsseite des Colorimeters kommt Amylalkohol. Außerdem ist es notwendig, einen Leerwert in Abzug zu bringen, denn der Amylalkohol ist auch in Abwesenheit von Plasmal etwas gefärbt. Die gemessenen Extinktionen werden auf 10 *mm* umgerechnet. Dieser Wert, mit 10,5 multipliziert, ergibt den Gehalt an Plasmal in der Eisessiglösung in *mg*-% oder in *g*-% der Lipoidsubstanz. Da der Gehalt des Plasmalogens an Plasmal etwa 55% beträgt, erhält man den Plasmalogengehalt durch Multiplikation des Plasmalgehaltes mit 1,8.

Zur Bestimmung in Organen wird 1,0 *g* frisches Organ mit 10 *g* Sand zerquetscht und dann fein verrieben und schließlich 1,0 *g* entwässertes sekundäres Natriumphosphat zugesetzt. Die Masse wird staubtrocken und kann sofort in einem Soxhlet-Apparat mit Narkoseäther extrahiert werden. Nach der Extraktion wird der Äther auf dem Wasserbad und zum Schluß im Vakuum verdampft. Der aus viel Lipoiden und Fetten neben wenig Plasmalogen bestehende Rückstand wird 1 Stde. über Schwefelsäure belassen und dann in 1,0 *ccm* Eisessig gelöst, mit 10 *ccm* fuchsinschwefliger Säure versetzt und weiter wie oben behandelt.

Im Serum kommt das Plasmal in so fein disperser Form vor, daß es unmittelbar durch Zusatz von fuchsinschwefliger Säure bestimmt werden kann. Die diesbezügliche Methode ist von R. Feulgen und K. Imhäuser[1]) beschrieben worden. Unter Verwendung eines Absolutcolorimeters kann das Verfahren noch vereinfacht werden. 2 *ccm* Serum werden mit 1 *ccm* Säuregemisch (n-Salzsäure und SO_2-haltiges Wasser zu gleichen Teilen) und 1 *ccm* fuchsinschwefliger Säure gemischt und 18 Stdn. im Dunkeln stehen gelassen. Nach dieser Zeit setzt man noch 1 *ccm* Säuregemisch zu und kann dann colorimetrieren. Bei der ursprünglichen Vorschrift wird noch ein Hilfsserum und ein Hilfsserum mit Zusatz bekannter Mengen Plasmalogen verwendet, was aber nach Anlage einer Eichkurve am Stufenphotometer unterbleiben kann.

Eine sehr interessante Zusammenstellung über die Lipoide und Lipide bei „Tesaurismosis" geben C. A. Grau und V. Oliva[2]).

Man weiß, daß Gierke den Namen „Tesaurismosis" vorgeschlagen hat, um gewisse Störungen bei der Bildung und Speicherung von Lipoiden und Glucosiden in gewissen Geweben zu kennzeichnen.

Seit den Arbeiten von Emil Epstein[3]) bezeichnete man den Tesaurismus, soweit er die Lipide betraf, als Lipoidosis und unterschied: eine Lipoidosis der Cerebroside oder den Morbus Gaucher, eine Lipoidosis der Phosphatide oder die Niemann-Picksche Erkrankung, eine Lipoidosis des Cholesterins oder Morbus Hand-Christian-Schüller. Seit aber die moderne Chemie festgestellt hat, daß die Cerebroside keine Lipide, sondern Glucoside sind, wird nunmehr unterschieden: Tesaurismus

[1]) Biochem. Ztschrft. **181**, 30, 45 (1927). — [2]) Bull. sci. pharmacol. **44**, 276 (1937). — [3]) Biochem. Ztschrft. **145**, 398 (1924).

der Glucoside, Morbus Gaucher, betr. das Kerasin, Morbus Gierke, betr. das Glykogen, Tesaurismus der Lipide: Morbus Hand-Christian-Schüller, betr. Cholesterin und seine Ester, Morbus Niemann-Pick, betr. die Lecithine.

Für eine allgemein orientierende Analyse nimmt man das frische oder formolfixierte Material, zerkleinert es, trocknet es 24 Stdn. bei 34°, pulverisiert es und entwässert vollkommen im Vakuum. Das Formol wird während 20—30 Tagen vollkommen entfernt, was aber nicht unbedingt notwendig ist. Zum Schluß trocknet man über Calciumchlorid, bis das Gewicht praktisch konstant ist. 5—10 *g* der trockenen Probe werden in einem Soxhlet-Apparat mit redestilliertem alkoholfreien Äther und danach mit absolutem Alkohol, am besten in der Wärme, extrahiert. Die Extrakte werden verdampft und gewogen. Berechnet auf Trockensubstanz handelt es sich beim Ätherextrakt bei etwa 7% Ausbeute um einen Normalfall oder Morbus Gaucher, bei 21% um einen Fall von Morbus Niemann-Pick.

Beim Alkoholextrakt ist eine Ausbeute von 8—10% normal, während man bei Morbus Niemann-Pick oder Morbus Gaucher mehr als 10% Ausbeute erhält.

Im Alkoholextrakt sind mehr als 0,4% Phosphor bei Morbus Niemann-Pick, weniger als 0,4% bei Morbus Gaucher.

Gibt man zu 10 *ccm* der alkoholischen Lösung 3 *ccm* einer kalt gesättigten wäßrigen Lösung von Quecksilberchlorid, so entsteht bei Morbus Niemann-Pick eine Trübung oder ein leichter Niederschlag von Fettsäuren oder Phosphatiden. Bei Morbus Gaucher entsteht ein voluminöser gelatinöser Niederschlag, der nach dem Entquecksilbern einen krystallinischen Niederschlag von Kerasin zurückläßt (Abbildung im Original).

Im einzelnen geht man folgendermaßen vor: Die ätherischen bzw. alkoholischen Extrakte werden in einer Mischung von Äther und Chloroform gelöst, und man bestimmt in einem aliquoten Teil Stickstoff und Phosphor. Andere Teile der Lösungen werden verdampft, mit heißem absoluten Alkohol aufgenommen und mit 30 *ccm* Quecksilberchloridlösung versetzt [nach Hans Lieb[1])]. Man beobachtet in der alkoholischen Lösung des Ätherextraktes einen leichten Niederschlag der Fettsäuren von gelatinösem Aussehen, ähnlich dem von Eiweiß. Nach 24 Stdn. wird filtriert, das Filter wird durchstoßen, der Niederschlag in Alkohol aufgeschwemmt und bei 40° mit Schwefelwasserstoff versetzt; man filtriert das Quecksilbersulfid ab und wäscht mit heißem absoluten Alkohol aus. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad eingeengt; in der Kälte entsteht ein Niederschlag von sphärischen Krystallen, die bei 175—178° schmelzen und eine positive Molisch-Reaktion geben. Sie sind löslich in Pyridin, linksdrehend und geben bei der Hydrolyse Kerasin.

K. Hinsberg.

[1]) Ztschrft. physiol. Chem. **140**, 305 (1924).

Berichtigung.

Im Heft 1/2 dieses Bandes muß in der Arbeit von W. Diemair und H. Häusser: „Zur Kenntnis der Peroxydasen, 1. Ein neues colorimetrisches Bestimmungsverfahren mit 2,6-Dichlorphenol-Indophenol und l-Ascorbinsäure im Pulfrich-Photometer“ in den Tabellen I—IV, Spalte 2, d, *cm* das Komma um eine Stelle verschoben werden; es muß z. B. statt d 0,200 *cm* 2,00 *cm* heißen usw.

Seite

Qualitative spektrographische Analyse (W. C. Pierce, O. R. Torres und W. W. Marshall. F. Twyman und F. Simeon. R. Mannkopff und C. Peters) 132

II. Chemische Analyse anorganischer Stoffe.

Literatur (F. Hecht und J. Donau. A. Smith-J. D'ans. G. Jander und F. Jahr) 136

Bestimmung von nichtmetallischen Einschlüssen im Stahl durch elektrolytische Rückstandsisolierung (P. Klinger und W. Koch) [mit 1 Abbildung] 137

III. Chemische Analyse organischer Stoffe.

Literatur (W. Hückel) 139

2. Qualitative und quantitative Analyse.

Gasvolumetrische Halbmikrobestimmung von Kohlenstoff in aliphatischen und cyclischen Verbindungen (E. Berl und W. Koerber) [mit 1 Abbildung] 140

IV. Spezielle analytische Methoden.

1. Auf Lebensmittel und Gesundheitspflege bezügliche.

Literatur (W. Ziegelmayer. W. Ziegelmayer und E. Merres) 141

Wein (E. Timmermann und W. Huntenburg. Th. v. Fellenberg. C. I. Kruisheer, N. J. M. Vorstman und L. C. E. Kniphorst. C. I. Kruisheer. W. Huntenburg) 142

2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche Methoden.

Literatur (R. Kolkwitz und F. Tödt) 146

Lösewirkungen von flüssigem Propan (C. S. Kuhn) 146

4. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Literatur (H. Vogel. W. Rudolph) 148

Lipoide (B. Josephson und G. Jungner. J. G. Reinhold und D. W. Wilson. L. Cuny. Y. Abe. S. Kawaguchi. A. v. Christiani und V. Anger. O. Rosenheim. R. Ehrström. K. Täufel, H. Thaler und G. Widmann. E. Kirk. W. R. Bloor. H. H. Williams, B. N. Erickson, I. Avrin, S. S. Bernstein und I. G. Macy. G. Ellis und L. A. Maynard. R. N. Chopra und A. C. Roy. R. Feulgen und H. Grünberg. R. Feulgen und K. Imhäuser. C. A. Grau und V. Oliva. E. Epstein. H. Lieb) 149

Redaktion geschlossen am 4. Juli 1941.

Der Reaktion ist ferner folgende Originalabhandlung zugegangen:

Nicolescu, M., Der Einfluß der Borsäure auf die Caramelisierung der Zuckerarten (eingel. 21. 6. 41).

Soeben erschien:

Plastische Eigenschaften von Kristallen und metallischen Werkstoffen

Von Dr. habil. **Albert Kochendörfer,**
Dozent für Physik an der Technischen Hochschule Stuttgart,
Wissenschaftlicher Mitarbeiter des Kaiser-Wilhelm-Instituts für Metallforschung.

(Reine und angewandte Metallkunde in Einzeldarstellungen, Band VII)

Mit 91 Abbildungen. XII, 312 Seiten. 1941. RM 27.—; geb. RM 28.50

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

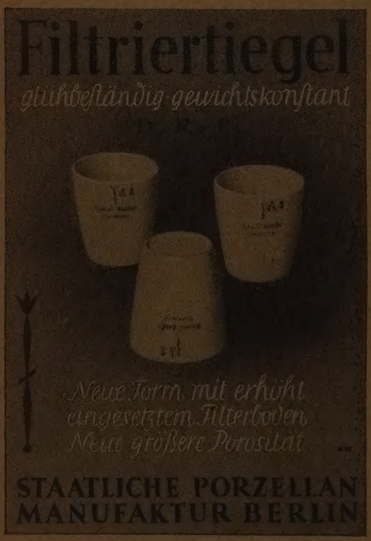
Membranfilter
nach Prof. Zsigmondy in
jeder Porenweite für

MEMBRANFILTER

Filtration . Elektrofiltration
Dialyse . Elektrodialyse
Osmose . Elektroosmose

Membran-Apparaturen

MEMBRANFILTER-GESELLSCHAFT, GÖTTINGEN



Neuere Anschauungen der organischen Chemie

Von
Dr. **Eugen Müller**
Dozent am Chemischen Laboratorium der Friedrich Schiller-Universität Jena

(Organische Chemie in Einzeldarstellungen. Herausgegeben von Hellmut Bredereck-Leipzig und Eugen Müller-Jena, Band I.)

Mit 40 Abbildungen. X, 391 Seiten. 1940. RM 27.—; gebunden RM 28.80

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Bücher Chemie und Technik
alt und neu
Ankauf - Verkauf
Sonder-Kataloge gratis! **Hugo Blanck**
Chemische u. technische Buchhandlung
Berlin-Charlottenburg 2 Knesebeckstraße 94
Telefon 315833

Verantwortlich f. d. Textteil: Dr. R. Fresenius, Wiesbaden; f. d. Anzeigenteil: Albert Meyer, Berlin-Steglitz, Kühlebornweg 5. Pl. 3. Druck von Carl Ritter & Co., Wiesbaden. Verlag von J. F. Bergmann, München. Printed in Germany.